



癌治療ワクチン開発の現状及び評価法に関する研究

著者名	大城 千鶴
発行年	2015-02
URL	http://hdl.handle.net/10470/31605

癌治療ワクチン開発の現状
及び評価法に関する研究

Study on Development Trend and Evaluation
Method of Therapeutic Cancer Vaccines

2015 年 2 月

大城 千鶴

Chizuru OGI

癌治療ワクチン開発の現状 及び評価法に関する研究

Study on Development Trend and Evaluation Method of Therapeutic Cancer Vaccines

2015 年 2 月

東京女子医科大学大学院医学研究科

および

早稲田大学大学院先進理工学研究科

共同先端生命医科学専攻 分子細胞医療研究

大城 千鶴

Chizuru OGI

目次

第 1 章 緒論	1
1.1. 本研究の目的	1
1.2. 本研究の背景	2
1.2.1. 癌治療ワクチンの概念	
1.2.2. 癌治療ワクチンの規制	
1.3. 本研究の意義	10
1.4. 本論文の構成	11
第 2 章 癌治療ワクチンの現状調査と課題の抽出	12
2.1. 目的	12
2.2. 方法	13
2.2.1. 臨床試験件数の傾向分析	
2.2.2. Phase III 以降の事例分析	
2.3. 結果	14
2.3.1. 臨床試験件数の傾向分析	
2.3.2. Phase III 以降の品目に関する事例分析	
2.3.3. 承認事例分析	
2.3.4. 終了した Phase III 臨床試験の現状分析	
2.3.5. 終了した Phase III 臨床試験の失敗事例分析	
2.4. 考察	30
2.4.1. 癌治療ワクチン開発の障壁となる開発フェーズ	
2.4.2. 癌治療ワクチンの承認要件及び上市条件	
2.4.3. 癌治療ワクチンの失敗原因	
2.5. 小括	32

第 3 章 癌治療ワクチンの開発を成功させるための患者選択に関する分析	33
3.1. 目的	33
3.2. 背景（免疫反応に影響を与える細胞）	33
3.3. 方法	35
3.4. 結果	36
3.4.1. 臨床試験中の患者選択基準に関する現状分析	
3.4.2. 免疫反応と臨床アウトカムを評価する開発フェーズに関する傾向分析	
3.4.3. 治療後の免疫反応と臨床アウトカムの評価における傾向分析	
3.4.4. 治療前の免疫反応と臨床アウトカムの評価における事例分析	
3.5. 考察	44
3.5.1. 癌治療ワクチンにおける腫瘍組織量評価の限界	
3.5.2. 免疫環境に対する前治療や併用薬の影響	
3.5.3. 癌治療ワクチンにおける免疫環境評価の可能性	
3.6. 小括	46
第 4 章 癌治療ワクチンの開発を成功させるための評価法としての免疫モニタリングに関する分析	47
4.1. 目的	47
4.2. 背景（免疫モニタリング）	47
4.3. 方法	52
4.3.1. 有効性評価項目別の臨床試験の傾向分析	
4.3.2. 免疫モニタリング測定法に関する事例分析	
4.4. 結果	53
4.4.1. 臨床試験中の有効性評価項目に関する現状分析	
4.4.2. 各有効性評価項目が適用される開発フェーズに関する傾向分析	

4.4.3.	臨床試験の対象癌種別の有効性評価項目に関する傾向分析	
4.4.4.	相関分析における免疫モニタリング測定法に関する傾向分析	
4.4.5.	免疫モニタリング測定法別の相関分析結果に関する傾向分析	
4.4.6.	治療前のバイオマーカー評価に関する事例分析	
4.5.	考察	66
4.5.1.	免疫モニタリング測定法のばらつき	
4.5.2.	新たな免疫モニタリング測定法の可能性	
4.5.3.	癌治療ワクチンに適した免疫効果判定法の必要性	
4.5.4.	癌治療ワクチン開発の免疫反応測定における考慮点	
4.6.	小括	70
第5章 癌治療ワクチンの開発を成功させるための提言		71
5.1.	本研究の成果	71
5.1.1.	癌治療ワクチン開発の評価法に対する改善策	
5.1.2.	癌治療ワクチン評価の開発フェーズに対する提言	
5.1.3.	癌治療ワクチンの規制に対する提言	
5.2.	レギュラトリーサイエンスとしての本研究の意義	82
5.2.1.	開発法の構築に対する意義	
5.2.2.	個別化医療の推進に対する意義	
5.3.	本研究の課題と今後の展望	84
参考文献		85
謝辞		94
研究業績		95

図題目次

第1章

- 図 1. 癌治療ワクチンの課題
- 図 2. 腫瘍免疫反応の概要
- 図 3. 本論文の構成

第2章

- 図 4. 癌治療ワクチン臨床試験の開発フェーズ
- 図 5. 癌治療ワクチン臨床試験件数の推移
- 図 6. スポンサー別の癌治療ワクチン臨床試験の推移
- 図 7. Phase III 以降の癌治療ワクチンの開発状況別品目数
- 図 8. 癌治療ワクチン Phase III 臨床試験の結果
- 図 9. 癌治療ワクチン Phase III 失敗事例から示唆された失敗要因

第3章

- 図 10. 癌治療ワクチンの免疫反応と臨床アウトカムを評価する開発フェーズ

第4章

- 図 11. 少数評価項目が適用された癌治療ワクチン臨床試験件数の推移
- 図 12. 評価項目別の癌治療ワクチン臨床試験の開発フェーズ
- 図 13. 癌治療ワクチン臨床試験の相関分析における免疫測定法
- 図 14. 癌治療ワクチン臨床試験の複数免疫測定法による相関分析結果

第5章

- 図 15. 癌治療ワクチン開発の評価法に対する改善策
- 図 16. 癌治療ワクチン評価の開発フェーズに対する考慮点

表題目次

第1章

- 表 1. 癌免疫療法の種類
- 表 2. 癌治療ワクチンの抗原分類
- 表 3. 日本における製剤別の規制
- 表 4. 細胞・遺伝子を中心とした先進医療に関する欧米のガイダンス及びガイドライン

第2章

- 表 5. Phase III 以降の癌治療ワクチンの開発状況
- 表 6. 承認済みの癌治療ワクチン
- 表 7. 終了した癌治療ワクチンの Phase III 臨床試験
- 表 8. 癌治療ワクチン Phase III 臨床試験の失敗の要因
- 表 9. 癌治療ワクチン Phase III 失敗事例のサブ解析結果

第3章

- 表 10. 終了した癌治療ワクチン Phase III 臨床試験における患者選択
- 表 11. 癌治療ワクチン Phase III 失敗事例における対象患者
- 表 12. 癌治療ワクチンの免疫反応と臨床アウトカムの分析種類
- 表 13. 癌治療ワクチン臨床試験における相関分析結果 (Log-rank 検定)
- 表 14. 癌治療ワクチン臨床試験における関連分析結果 (Cox 比例ハザードモデル)

第4章

- 表 15. 末梢血を用いた免疫測定法
- 表 16. 評価項目別の癌治療ワクチン臨床試験件数
- 表 17. 対象癌種別の癌治療ワクチン臨床試験評価項目
- 表 18. 癌治療ワクチンの免疫反応と臨床アウトカムの相関分析
- 表 19. FDA ガイダンスと本研究の調査及び提言の比較

記号・略語の説明

AJCC	American Joint Committee on Cancer: 米国がん合同委員会
ASCO	American Society of Clinical Oncology: 米国臨床腫瘍学会
CBER	Center for Biologics Evaluation and Research: 生物製剤評価研究センター
CD	Cluster of differentiation: 分化抗原
CMC	Chemistry, manufacturing and control: 化学・製造および品質管理
CR	Complete response: 完全寛解
CT	Center of tumor: 腫瘍中心部
DC	Dendritic cell: 樹状細胞
DFS	Disease-free survival: 無病生存期間
DMSF	Distant metastasis-free survival: 無遠隔転移生存期間
DSS	Disease-specific survival: 原病生存期間
DTH	Delayed-type hypersensitivity: 遅延型過敏症
EGF	Epidermal growth factor: 上皮細胞増殖因子
EMA	European Medicines Agency: 欧州医薬品庁
FDA	Food and Drug Administration: アメリカ食品医薬品局
GMP	Good Manufacturing Practice: 医薬品製造管理および品質管理基準
HR	Hazard ratio: ハザード比
Id	Idiotypic: イディオタイプ
IFN	Interferon: インターフェロン
IL	Interleukin: インターロイキン
IM	Invasive margin: 浸潤辺縁部
IND	Investigational new drug application: 治験許可申請
irRC	Immune-related response criteria: 免疫学的評価基準
KLH	Keyhole limpet hemocyanin: キーホールリンペットヘモシアニン
MDSC	Myeloid-derived suppressor cell: 骨髄由来抑制細胞
MHC	Major histocompatibility complex: 主要組織適合複合分子
NCI	National Cancer Institute: アメリカ国立がん研究所
OS	Overall survival: 全生存期間
PAP	Prostatic acid phosphatase: 前立腺酸性フォスファターゼ
PD	Progression of disease: 病態の悪化、腫瘍増悪

PFS	Progression-free survival: 無増悪生存期間
PMDA	Pharmaceuticals and Medical Devices Agency: 医薬品医療機器総合機構
POC	Proof of concept: 概念の実証
PR	Partial response: 部分寛解
RECIST	Response evaluation criteria in solid tumors: 固形癌の治療効果判定のためのガイドライン
RFS	Recurrence-free survival: 無再発生存期間
SD	Stable disease: 病態の安定
SKIL	Skin-test infiltrating lymphocyte: 皮膚浸潤リンパ球
STn	Syalyl Tn: シアリル Tn
TAA	Tumor-associated antigen: 腫瘍関連抗原
TCR	T cell receptor: T 細胞受容体
TGF	Transforming growth factor: 形質転換増殖因子
TIL	Tumor infiltrating lymphocyte: 腫瘍浸潤リンパ球
TNF	Tumor necrosis factor: 腫瘍壊死因子
Treg	Regulatory T cell: 制御性 T 細胞
TTP	Time to progression: 無増悪期間
UICC	Union for International Cancer Control: 国際対がん連合
VEGF	Vascular endothelial growth factor: 血管内皮増殖因子
WHO	World Health Organization: 世界保健機関

第 1 章 緒論

1.1. 本研究の目的

本研究は、癌治療ワクチン開発を促進させるための課題を特定し、改善のための方策を提言することを目的に行った。具体的には、以下の提言を行う。

- 1) 癌治療ワクチン開発の評価法に対する提言
- 2) 癌治療ワクチンの開発フェーズに対する提言
- 3) 癌治療ワクチンの規制に対する提言

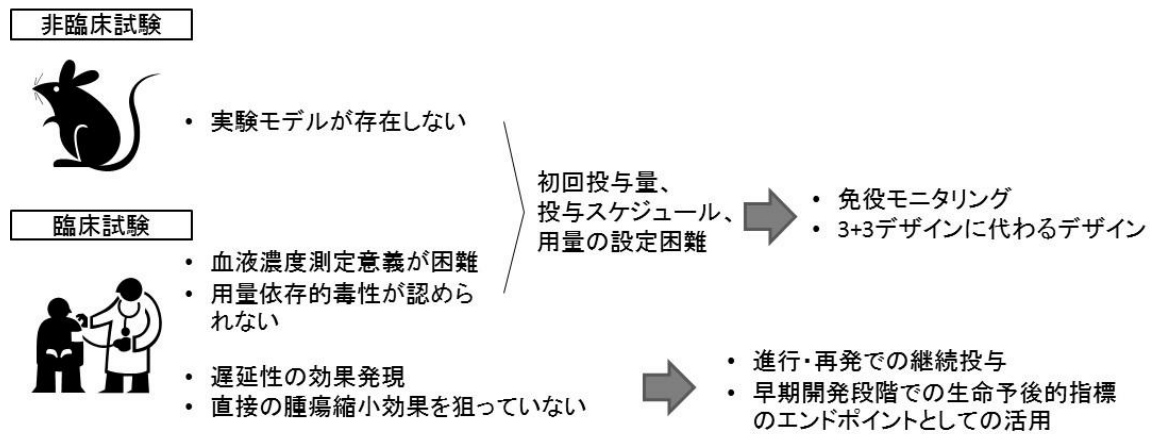
癌治療ワクチンは、癌の治療を目的とした免疫療法の一種であり、癌に特異的な能動免疫反応を誘導または増幅するものと定義されている¹⁾。既存の化学療法や生物学的製剤とは異なる新規治療として、1980年代から開発が続いている。しかし、癌治療ワクチンの有効性の科学的証明には難渋しており、米国では2010年4月に Food and Drug Administration (FDA：アメリカ食品医薬品局) より承認された Provenge[®]が初めての癌治療ワクチンである¹⁾。癌治療ワクチンは生体での免疫を介した治療効果を狙ったものであり、従来の抗癌剤開発における試験法や評価法が必ずしも適切でないなどの課題がある。ガイドラインの整備に関しては、2011年10月に FDA が癌治療ワクチンの臨床に関するガイドラインを発行しているが、日本や欧州では未だ整備されていない¹⁾。薬事承認を成功させるための開発の共通概念あるいは規制上の判断方針がなければ開発リスクが高くなり、企業のイノベーションに対する投資が減速することが危惧される。その結果、一部の研究目的の利用に限定されることによって患者の医療アクセスの問題が生じることが予想される。癌治療ワクチンの早期承認を可能にするには科学的根拠に基づく開発方法論が必要であり、こうした見地に基づいて癌治療ワクチン領域の開発を改善していくことが非常に重要である。

1.2. 本研究の背景

World Health Organization (WHO：世界保健機関) の報告では、癌は 2012 年世界の死亡原因の第 1 位 (820 万人) であった³⁾。また、米国の Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) プログラムによると、2004 年から 2010 年の間、癌の 5 年生存率は 66.1% にすぎなかった⁴⁾。このように、癌は主要な死亡原因であり、生存を延長させる革新的な癌治療法や、代替治療法のない患者に対する新たな治療法など、アンメットニーズが未だ残っている。1998 年に米国でハーセプチン (抗 HER2 抗体) が承認されて以降、癌細胞の増殖、浸潤、転移に係る分子を標的にして可能な限り癌細胞のみを攻撃する分子標的薬が続々と登場しており、癌の薬物療法はめざましく進歩しているものの、薬剤耐性が生じたり、イレッサによる間質性肺炎など予測できない副作用が生じることもあることが分かってきている。

一方、癌治療ワクチンは、1) 癌細胞内のシグナル伝達系に起因する薬剤耐性を避けることができる、2) 癌特異性が高いため予期しない副作用を最低限に抑えることができる、3) 免疫応答が記憶されることで治療効果が継続する、などの恩恵が期待されている⁵⁾。

このように、癌治療ワクチンは、既存の薬物療法にない新たなメカニズムによる治療効果と安全性を示すことが期待されているが、生体内の免疫系応答を介する作用であることから、従来の抗癌剤における試験法や評価法が必ずしも適切でないという課題がある (図 1)。本課題は FDA によって発出された **Guidance for Industry** や日本バイオセラピー学会によって提唱された「がん治療用ペプチドワクチンガイドランス」でも述べられており、具体的にいくつかの論点が挙げられている^{1), 6)}。例えば、ヒトへ外挿可能な適切な実験モデルが存在しないために、初回投与量や投与スケジュールの設定が従来の方法では難しいことが挙げられている。また、生体内の免疫細胞を介した作用を期待しているため、薬物動態を測定する従来の抗癌剤評価法との違いが生じる。そのため、癌治療ワクチンでは、免役モニタリングを活用した薬力学的解析が、薬物の生体内での作用機構をより反映させるものとして着目されている。癌治療ワクチンでは用量依存的な毒性が見られず最大耐用量の決定が困難であるため、用量設定においては、従来の抗癌剤で主流となっている漸増試験における 3+3 デザインに代わるデザインが求められている。さらに、癌治療ワクチンは、直接の腫瘍縮小効果に乏しいことや遅発性の効果発現が想定されることから、病態の進行・再発の場合でも継続投与することが検討されており、早期開発段階でも生命予後的指標をエンドポイントとすることが理想と議論されている。



参考：FDA Guidance for Industry¹⁾、日本バイオセラピー学会「がん治療用ペプチドワクチンガイドランス」⁶⁾

図 1. 癌治療ワクチンの課題

1.2.1. 癌治療ワクチンの概念

癌細胞は正常遺伝子に突然変異や遺伝子増幅などの変化が起こることから発生する。その結果、癌細胞は生体内の免疫系によって異物と認識される特異的なタンパク質である癌抗原を発現する。癌の変異抗原はペプチド断片となって細胞内で major histocompatibility complex (MHC：主要組織適合複合分子) と結合して細胞表面に提示され、このペプチドと MHC の複合体が免疫細胞である T 細胞上のレセプターによって認識される。MHC は主に細胞内で産生される抗原を提示するクラス I MHC と、主に細胞外の外部タンパク質に由来する抗原を提示するクラス II MHC に分類される。クラス I MHC は、 $CD8^+$ 細胞傷害性 T 細胞にペプチドを提示し、クラス II MHC は $CD4^+$ ヘルパー T 細胞 (Th 細胞) にペプチドを提示する。クラス I MHC は様々な細胞に発現しているが、クラス II MHC が発現する細胞はマクロファージや樹状細胞などの抗原提示細胞に限られている。つまり、腫瘍免疫では、癌細胞表面上に提示される抗原を認識する $CD8^+$ 細胞傷害性 T 細胞を活性化するクラス I 経路と樹状細胞やマクロファージなどの抗原提示細胞が提示した抗原を認識する $CD4^+$ ヘルパー T 細胞を活性化するクラス II 経路による免疫活性がある (図 2)。

細胞性免疫の主な役割を担う $CD8^+$ 細胞傷害性 T 細胞は、結合した癌細胞にタンパク質を切断するパーフォリン、グランザイムなどの顆粒を放出して細胞を傷害する。あるいは、細胞傷害性 T 細胞上に発現した Fas リガンドが癌細胞上の Fas に結合し、癌細胞内のカスパーゼを活性化することによってアポトーシスを誘導すると考えられている。

$CD4^+$ ヘルパー T 細胞は Th1 細胞と Th2 細胞に分化し、サイトカインを産生する。Th1 細胞は interleukin (IL：インターロイキン) -2、interferon (IFN：インターフェロン) γ や tumor necrosis factor (TNF：腫瘍壊死因子) α 等を産生し、マクロファージや細胞傷害性 T 細胞を活性化して細胞性免疫を増幅する。Th2 細胞は IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13 等を産生し、B 細胞の増殖、分化を促進する結果、液性免疫を誘導する一方で、細胞性免疫を抑制する働きも有している。

癌免疫療法は体内の免疫系を活性化する能動免疫と、免疫系を構成する要素を体外から移入する受動免疫に大別され、さらに癌特異的あるいは非特異的といった反応別に分類される (表 1)。その内、癌治療ワクチンは特異的能動免疫反応を標的とした治療法である。投与した癌抗原がそのままクラス I MHC と結合、もしくは細胞内に取り込まれてクラス II MHC と結合して抗原提示細胞上に癌抗原ペプチドを提示することを活用し、癌抗原特異的な T 細胞の反応を誘導または増幅することを促す。また、メモリー T 細胞に分化して長期間存在する結果、生存期間が延長することを期待している。

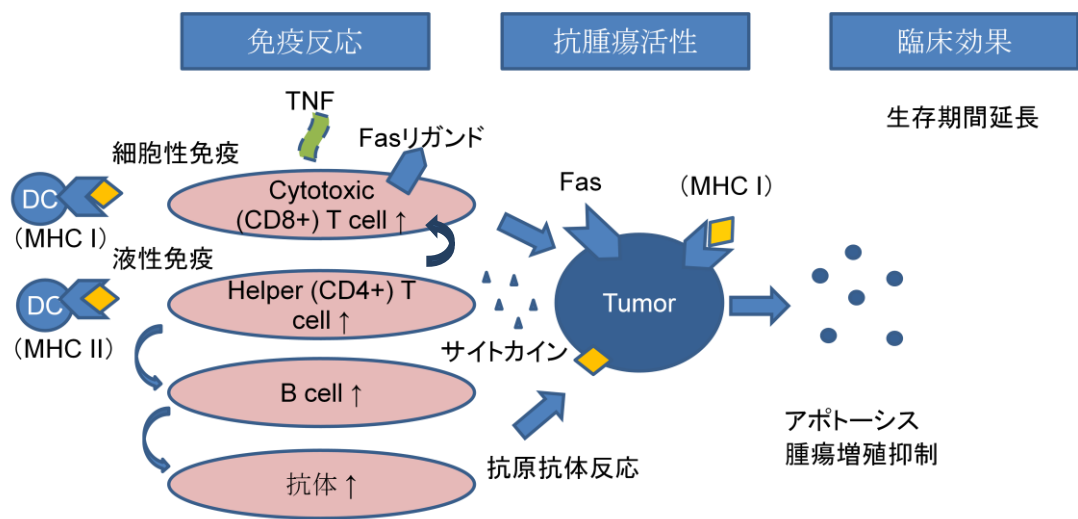


図 2. 腫瘍免疫反応の概要

表 1. 癌免疫療法の種類

能動的	非特異的	免疫賦活剤 (BCG、OK-432、PSK、Lentinan、Schizophyllan) サイトカイン (IL-2、IFN、TNF)
	特異的	癌抗原ワクチン (自家癌抗原、樹状細胞提示抗原、遺伝子組換え抗原、精製ペプチド・タンパク質抗原、抗イディオタイプ抗体)
受動的	非特異的	免疫細胞療法 (LAK 療法、NK 細胞療法)
	特異的	免疫細胞療法 (TIL 療法、CTL 療法) 抗体 (rituximab (CD20)、trastuzumab (HER2)、gentuzumab ozogomicin (CD33))

参考: 信州医学雑誌 55(3):113-120 (2007)⁷⁾

1.2.2. 癌治療ワクチンの規制

癌治療ワクチンとして投与する抗原には、細胞抗原、遺伝子組換え抗原、ペプチドやタンパク質などの精製抗原があり、多様な製造技術がある（表 2）⁸⁾。この内、細胞抗原を用いる場合、細胞加工における品質と安全性を確保するため、Good Manufacturing Practice（GMP：医薬品製造管理および品質管理基準）を満たした細胞加工施設で処理を行う必要がある。また、抗原に遺伝子組換えを伴う場合、遺伝子組換え製剤の品質及び安全性を確保するための規制を遵守する必要がある。

表 2. 癌治療ワクチンの抗原分類

抗原	投与物質（媒体）	細胞加工	遺伝子精製
細胞抗原	樹状細胞	要	不要
	自家癌細胞	要	不要
遺伝子組換え抗原	ベクター（プラスミド DNA、ウィルス）	不要	要
精製抗原	ペプチド・タンパク質	不要	不要
	抗イディオタイプ抗体	不要	抗体作製過程で組換え DNA 技術を活用する場合もある

1) 細胞抗原

細胞抗原には、患者から抽出した癌細胞や樹状細胞等を活用した製造手段がある。癌細胞ワクチンは患者の自家癌細胞を無毒化するなどの細胞加工の後、癌抗原として患者に注入する。一方、樹状細胞は T 細胞を活性化させる有力な抗原提示細胞の一つである。白血球成分採血によって樹状細胞を採取し、in vitro で癌抗原をパルスすると、樹状細胞表面に MHC と結合した癌抗原が提示されることから、それを患者の体内に戻し、樹状細胞と T 細胞を介した免疫系の活性化によって癌細胞を攻撃することを目指している。細胞製剤の製造はこうした細胞加工が必要となることが特徴である。

2) 遺伝子組換え抗原

遺伝子組換え抗原は、癌抗原遺伝子を組み入れたプラスミド DNA、ウィルス、バクテリア等を用いる。これらは患者の体内で抗原提示細胞を活性化させ、同じ抗原を持つ癌細胞を攻撃することを目指している。

3) 精製抗原

化学的あるいは生物学的に抗原を精製する精製抗原には、ペプチド・タンパク質抗原や抗イディオタイプ抗体が含まれる。ペプチド・タンパク質抗原は抗原決定基の構造を模倣して精製したもので、*in vivo* で癌抗原と同等の作用を示すと考えられている。患者体内で癌抗原として抗原提示細胞の MHC に結合し、免疫応答を引き起こすことを期待している。抗イディオタイプ抗体は癌抗原に反応する抗体のイディオタイプに対する抗体であり、タンパク質の一種である。抗イディオタイプ抗体の超可変領域の構造が癌抗原と類似していることより、癌抗原と同様の作用を発揮することが期待される。

細胞製剤、遺伝子製剤、生物学的製剤には製造上の特徴があるため、癌治療ワクチンに限定しない、製剤別の製造管理・品質管理、安全性の確保、規格に関する規制が存在する（表 3）。

一方、製剤に関わらず、癌治療ワクチンの作用機序に固有の規制が存在する国は日米欧では米国のみで、癌治療ワクチンの臨床評価に関して、2011 年 10 月に FDA より発行された **Guidance for Industry: Clinical Considerations for Therapeutic Cancer Vaccines**¹⁾が唯一のガイダンスである（表 4）。このガイダンスは、癌治療ワクチンの **investigational new drug application**（IND：治験許可申請）を目指す企業や団体等のスポンサーに対して臨床試験において考慮すべき事項を示し、検討を推奨するものである。内容は主に臨床試験のデザインに関する提言であり、従来の抗癌剤の開発とは異なる、癌治療ワクチンの特徴が考慮されている¹⁾。

表 3. 日本における製剤別の規制

細胞製剤	遺伝子製剤	生物学的製剤
<ul style="list-style-type: none"> ● 細胞・組織を利用した医療機器又は医薬品の品質及び安全性の確保について（医薬発第 906 号、平成 11 年 7 月 30 日、改正：平成 21 年 5 月 18 日、平成 22 年 11 月 1 日） ● 細胞・組織を利用した医薬品等の品質及び安全性の確保に係る手続の変更について（薬食発第 0330030 号、平成 19 年 3 月 30 日） ● ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の製造管理・品質管理の考え方について（薬食監麻発第 0327025 号、平成 20 年 3 月 27 日） ● ヒト（同種）由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保について（薬食発第 0912006 号、平成 20 年 9 月 12 日） ● 細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確認申請書の記載要領について（薬食審査発 0420 第 2 号平成 22 年 4 月 20 日） 	<ul style="list-style-type: none"> ● 組換え DNA 技術を応用して製造される医薬品の承認申請に必要な添付資料の作成について（薬審第 243 号、昭和 59 年 3 月 30 日） ● 遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保について（薬食審査発 0701 第 4 号、平成 25 年 7 月 1 日） ● 遺伝子治療臨床研究に関する指針（平成 14 年 3 月 27 日、平成 12 月 28 日全部改正、平成 20 年 12 月 1 日一部改正、平成 26 年 11 月 25 日一部改正） ● 遺伝子組換え生物等含有医薬品等の第一種使用規程の承認申請に必要な生物多様性影響の評価を実施する際の留意事項について（薬食発 0913005 号、平成 19 年 9 月 13 日） 	<ul style="list-style-type: none"> ● 生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）の規格及び試験方法の設定について（医薬審発第 571 号、平成 13 年 5 月 1 日）

表 4. 細胞・遺伝子を中心とした先進医療に関する
欧米のガイダンス及びガイドライン

当局	ガイダンス・ガイドライン	内容
EMA	Note for guidance on the quality, preclinical and clinical aspects of gene transfer medical products (24 April 2001, CPMP/BWP/3088/99)	遺伝子 (CMC、非臨床、臨床)
	Guideline on Potency Testing of Cell Based Immunotherapy Medical Products for the Treatment of Cancer (10 October 2007, EMEA/CHMP/BWP/271475/2006)	細胞 (力価)
	Guideline on Human Cell-Based Medical Products (21 May 2008, EMEA/CHMP/410869/2006)	細胞 (CMC)
	Guideline on the risk-based approach according to annex I, part IV of Directive 2001/83/EC applied to Advanced therapy medical products (11 February 2013, EMA/CAT/CPWP/686637/2011)	先進医療 (リスク)
FDA (CBER)	Guidance for the Submission of Chemistry, Manufacturing, and Controls Information and Establishment Description for Autologous Somatic Cell Therapy Products (January, 1997)	細胞 (CMC)
	Guidance for Human Somatic Cell Therapy and Gene Therapy (March, 1998)	細胞、遺伝子 (CMC)
	Regulation of Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue-Based Products (HCT/Ps) Small Entity Compliance Guide (August, 2007)	細胞 (規制 Q&A)
	Content and Review of Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Somatic Cell Therapy Investigational New Drug Applications (INDs) (April, 2008)	細胞 (CMC)
	Potency Tests for Cellular and Gene Therapy Products (January, 2011)	細胞、遺伝子 (力価)
	Preclinical Assessment of Investigational Cellular and Gene Therapy Products (November, 2013)	細胞、遺伝子 (非臨床)
	Gene Therapy Clinical Trials – Observing Subjects for Delayed Adverse Events (November, 2006)	遺伝子 (臨床)
	Supplemental Guidance on Testing for Replication Competent Retrovirus in Retroviral Vector Based Gene Therapy Products and During Follow-up of Patients in Clinical Trials Using Retroviral Vectors (November, 2006)	遺伝子 (臨床)
	Clinical Considerations for Therapeutic Cancer Vaccines (October, 2011)	癌治療ワクチン全般 (臨床)

1.3. 本研究の意義

医療レギュラトリーサイエンスは、新しい科学技術を医療に応用する際に、その成果を科学的根拠に基づいて評価、予測、意思決定を行う科学である。その結果、より優れた医療を人や社会にもたらすイノベーションを加速させることに資する。癌治療ワクチンは、特異的能動免疫を医療へ応用するイノベーションである。癌治療ワクチンの開発は、原薬や製剤の安定性や品質などの chemistry, manufacturing and control (CMC：化学・製造および品質管理) 試験、薬理作用や動物での毒性、薬物動態を証明する非臨床試験、そしてヒトでの有効性及び安全性を証明する臨床試験から成り立つ。特に、癌治療ワクチンは免疫系の細胞間相互作用を介するため、その科学的証明方法に工夫を要する。中でも、ヒト生体内の免疫系を動物で証明することには限界があることから、特にヒトでの科学的証明に関心が集まっている。このことから、本研究では、臨床試験での科学的証明を中心とした癌治療ワクチンの開発法に対して提言を行った。

的確な法律やガイドラインの制定は医療レギュラトリーサイエンスの成果の一つといえる。ただし、これらには最も高いレベルの科学的手法が取り入れられなければならない。新しい科学技術のノウハウや、既存の手法に対する課題認識は、規制当局のみならずアカデミアや企業に存在することが多い。従って、法律やガイドラインの制定の前に、各所に存在する知識の集積やトレンドの洞察が必要となる。本研究は、癌治療ワクチン開発における企業の障壁及びアカデミアや企業によって蓄積された研究結果に基づきトレンドを分析し、現在の課題を明らかにした研究であり、癌治療ワクチンの評価法を最適化する必要性をデータから提起するものとして価値がある。

また、新しい科学技術のリスクベネフィットを予測し意思決定を行うためには、既存評価法の改善や新たな評価法の導入のための議論のプロセスが肝要である。本研究はこうした議論の方向性の糸口として、癌治療ワクチン開発の成功及び本分野の発展に寄与する。

1.4. 本論文の構成

本論文では、第 2 章で癌治療ワクチンの開発動向と開発事例を調査分析し、癌治療ワクチンの開発における課題を特定した。第 3 章では臨床試験の患者選択に関して調査分析を行い、患者選択における改善のための方策を検討した。第 4 章では臨床試験中の免疫モニタリングに関して調査分析を行い、免疫モニタリングにおける改善のための方策を検討した。そして、これらの結果を踏まえて第 5 章で癌治療ワクチンの開発を成功させるための提言を行い、本研究を総括した。

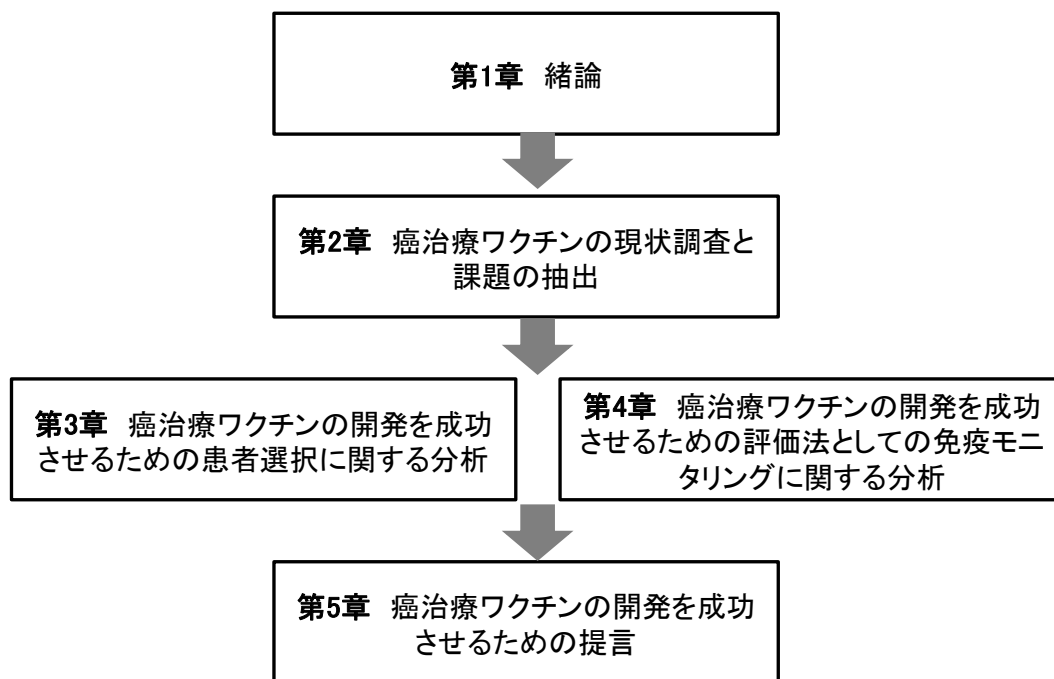


図 3. 本論文の構成

第2章 癌治療ワクチンの現状調査と課題の抽出

2.1. 目的

癌治療ワクチンは 30 年以上も開発が試みられているが、FDA、European Medicines Agency (EMA：欧州医薬品庁)、Pharmaceutical and Medical Devices Agency (PMDA：医薬品医療機器総合機構) による承認事例は FDA によって承認された Provenge[®] 1 例のみである。一方、癌治療ワクチンは従来の抗癌剤にはない反応経路上の特徴を有するにもかかわらず、癌治療ワクチンの臨床評価法に関連する公的なガイダンスは、Provenge[®] の承認以降に FDA によって発出された Guidance for Industry のみである。このことから、臨床評価法が十分確立されていないことが、癌治療ワクチンの承認実績に影響を及ぼしているのではないかと考えた。

本章では、癌治療ワクチンの過去の臨床試験実績及び個別事例を調査することによって癌治療ワクチンの定量的、定性的な開発傾向を明らかにし、癌治療ワクチンの臨床評価法に関する課題を抽出する。

2.2. 方法

2012 年 6 月 25 日時点で ClinicalTrials.gov に登録された臨床試験から、一定の検索条件（“Condition: Cancer”, “Study Type: Interventional studies”, “Treatment: Vaccine therapy”）でヒットした 631 件中、特定の条件（“Condition: Herpes Zoster”, “Intervention: HIV, HPV vaccine, influenza vaccine”）を除外し、特定できた臨床試験 614 件を対象に分析を行った。

2.2.1. 臨床試験件数の傾向分析

2005 年から 2011 年に開始した癌治療ワクチンの臨床試験 305 件を抽出し、臨床試験のフェーズ分類、臨床試験フェーズ別の経年変化、臨床試験スポンサー別の経年変化を調査し、癌治療ワクチン開発の傾向を分析した。

2.2.2. Phase III 以降の事例分析

2012 年 6 月 25 日時点の Phase III 以降の臨床試験から開発品目を抽出し、品目の重複や癌治療ワクチン以外の品目を除外した。また、企業による公表等から癌治療ワクチンの品目を追加した。その結果、開発ステージが Phase III 以降の癌治療ワクチン 31 品目を特定した。これら 31 品目から承認事例を抽出し、承認時に得られた臨床試験データまたは承認要件を調査した。また、Phase III の失敗事例を調査し、失敗の原因に関する分析を行った。

2.3. 結果

2.3.1. 臨床試験件数の傾向分析

ClinicalTrials.gov のデータに基づき、2005 年から 2011 年に開始された癌治療ワクチンの臨床試験のフェーズ分布を図 4 に示した。対象となる臨床試験は 305 試験あり、内 259 試験 (85%) が早期フェーズ (Phase 0, I, I/II, II) であった。内、Phase I は 91 試験 (30%)、Phase I/II は 61 試験 (20%)、Phase II は 104 試験 (34%) であった。しかし、Phase III はわずか 19 試験 (6%) であった。

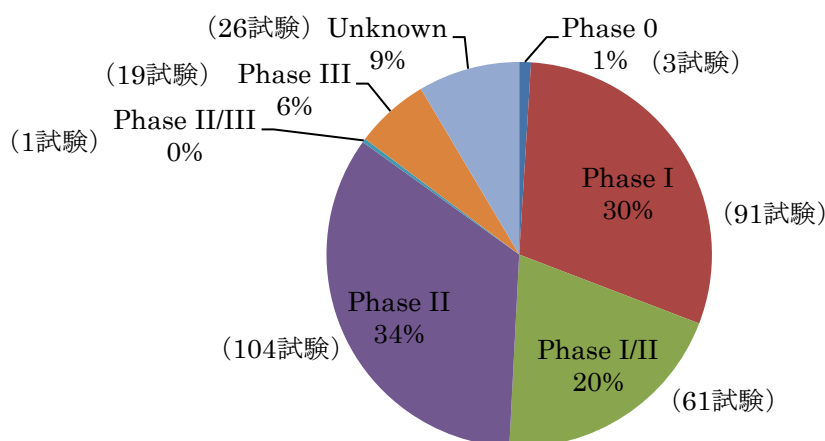


図 4. 癌治療ワクチン臨床試験の開発フェーズ
(2005 年～2011 年開始の臨床試験累計)

図 5 に癌治療ワクチン臨床試験の開始件数の年次推移を示した。2005 年から 2011 年まで、癌治療ワクチンの臨床試験の開始件数には顕著な傾向は認められなかった。一方、Phase I 及び Phase I/II は 2009 年まで増加傾向にあったが、2009 年以降減少傾向にあった。ただし、Phase III の件数は 0 試験から 4 試験の低い水準で推移しており、あまり変化は認められなかった。

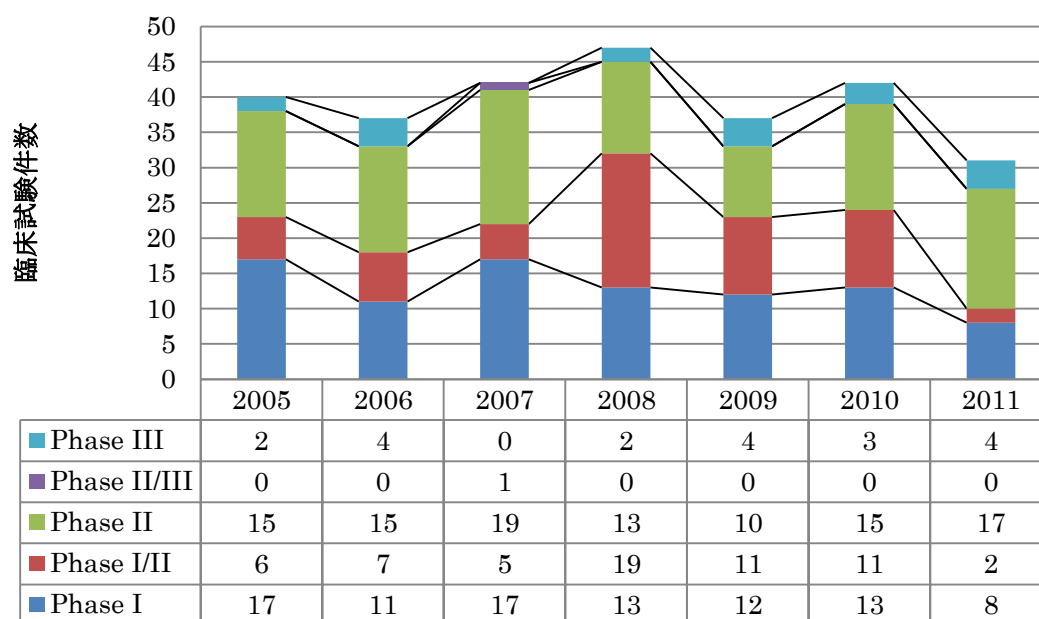


図 5. 癌治療ワクチン臨床試験件数の推移

ClinicalTrials.gov に登録された各開発フェーズ別の癌治療ワクチンの臨床試験のスポンサーの傾向を図 6 に示した。2007 年から 2011 年までの累積データによると、Phase I 及び I/II、II 及び II/III の約 8 割が公的機関あるいは研究者がスポンサーの臨床試験で、Phase III の約 8 割が企業主導の臨床試験であった。早期の開発フェーズでは公的機関あるいは医療機関がスポンサーとなる臨床試験が主流であり、開発フェーズが進むにつれて、企業主導の臨床試験が主体となっていた。2009 年以降公的機関あるいは研究者が主導する Phase I 及び I/II が減少傾向にある一方、企業主導の Phase II 及び II/III、Phase III は増加傾向にあった。

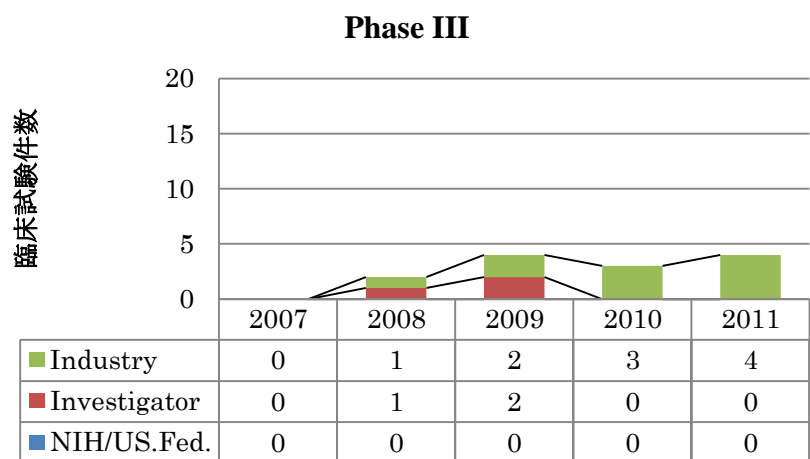
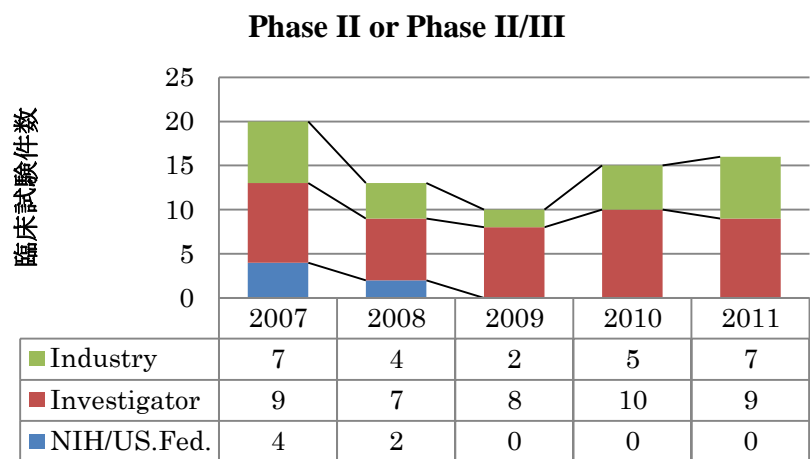
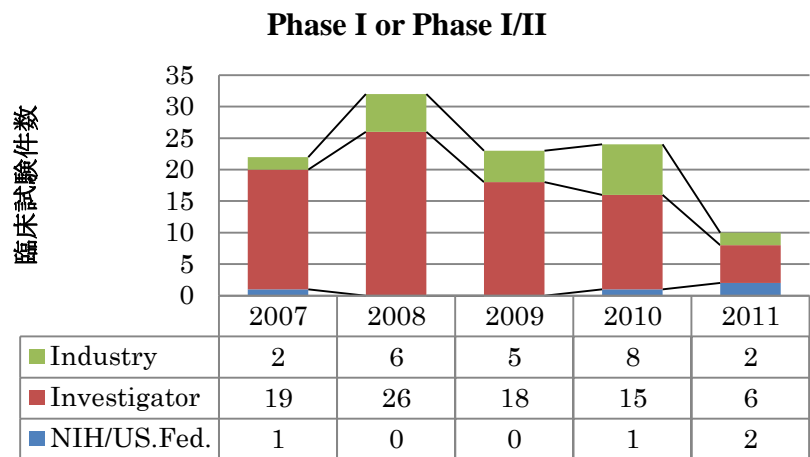


図 6. スポンサー別の癌治療ワクチン臨床試験の推移

2.3.2. Phase III 以降の品目に関する事例分析

2012 年 6 月 25 日時点の ClinicalTrials.gov 及びその他の公的発表等から、開発ステージが Phase III に達した癌治療ワクチンの開発状況とその品目を特定した（表 5）。開発ステージが Phase III 以降の品目は 31 品目あった。その内、承認済みは 6 品目、開発中止は 8 品目、開発中は 14 品目、不明は 3 品目であった（図 7）。

表 5. Phase III 以降の癌治療ワクチンの開発状況

開発状況	製剤	製品名	企業名	癌種
承認済み	樹状細胞	Provenge®	Dendreon Corp. (US)	前立腺癌
承認済み	樹状細胞	DCVax®-Brain	Northwest Biotherapeutics, Inc. (US)	神経膠芽腫
承認済み	樹状細胞	HybriCell	Genoa Biotechnologia S.A. (Brazil)	腎細胞癌、メラノーマ
承認済み	腫瘍細胞	M-Vax™	AVAX Technologies, Inc. (US)	メラノーマ
承認済み	タンパク質	CIMAVax EGF®	Bioven Sdn. Bhd. (Malaysia)	非小細胞肺癌
承認済み	ペプチド	Oncophage® (vitespen)	Agenus, Inc. (US)	腎細胞癌
開発状況	製剤	製品名	企業名	癌種
開発中止	腫瘍細胞	CANVAXIN®	Amgen, Inc. (US)	メラノーマ
開発中止	遺伝子	PANVAC™-VF (falimarev)	Therion Biologics Corp. (US)	膀胱癌
開発中止	タンパク質	Theratope®	Oncothyreon Inc. (US)	乳癌
開発中止	ペプチド	Stimuvax® (L-BLP25)	Oncothyreon, Inc. (US)	乳癌
開発中止	抗イディオタイプ抗体	Specifid™ (mitumprotimut-T)	MMRGlobal, Inc. (US)	非ホジキンリンパ腫
開発中止	抗イディオタイプ抗体	MyVax®	Genitope Corp. (US)	非ホジキンリンパ腫
開発中止	抗イディオタイプ抗体	GM2-KLH vaccine	Progenics Pharmaceuticals, Inc. (US)	メラノーマ
開発中止	抗イディオタイプ抗体	BEC2	Eli Lilly and Company (US)	小細胞肺癌
不明	タンパク質	Insegia™ (G17DT immunogen)	Receptor BioLogix, Inc. (US)	膀胱癌
不明	ペプチド	OTS-102	OncoTherapy Science, Inc. (Japan)	膀胱癌
不明	ペプチド	Oncophage® (vitespen)	Agenus, Inc. (US)	メラノーマ

開発状況	製剤	製品名	企業名	癌種
開発中	腫瘍細胞	OncoVAX®	Vaccinogen, Inc. (US)	大腸癌
開発中	腫瘍細胞	Lucanix®	NovaRx Corp. (US)	非小細胞肺癌
開発中	腫瘍細胞	Hyperacute-Pancreatic Cancer Vaccine® (algenpantucel-L)	NewLink Genetics Corp. (US)	膵癌
開発中	遺伝子	Allovectin-7®	Vical Inc. (US)	メラノーマ
開発中	遺伝子	ProstAtak™	Advantagene, Inc. (US)	前立腺癌
開発中	タンパク質	astuprotimut-R (MAGE-A3)	GlaxoSmithKline plc (UK)	非小細胞肺癌 メラノーマ
開発中	ペプチド	GV1001	KAEL-GemVax Co., Ltd. (South Korea)	膵癌 非小細胞肺癌
開発中	ペプチド	Stimuvax® (L-BLP25)	Oncothyreon, Inc. (US)	非小細胞肺癌
開発中	ペプチド	PR1	MD Anderson Cancer Center	急性骨髄性白血病
開発中	ペプチド	NeuVax®	Galena Biopharma, Inc. (US)	乳癌
開発中	ペプチド	PAS	Cancer Advances Inc. (US)	膵癌 消化管間質腫瘍
開発中	ペプチド	IMA901	Immatics biotechnologies GmbH (Germany)	腎細胞癌
開発中	抗イディオタイプ抗体	BiovaxID®	Biovest International, Inc. (US)	非ホジキンリンパ腫
開発中	抗イディオタイプ抗体	Racotumomab	Racombio (Spain)	非小細胞肺癌

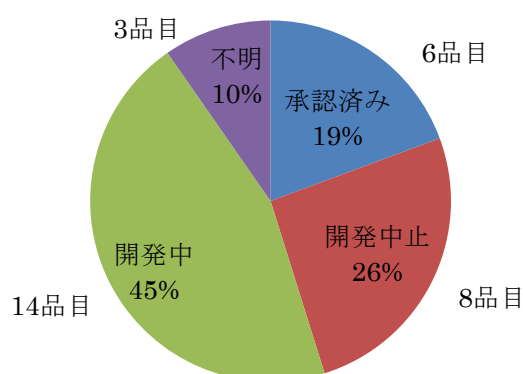


図 7. Phase III 以降の癌治療ワクチンの開発状況別品目数

2.3.3. 承認事例分析

承認済みの癌治療ワクチンを表 6 に示した。承認済み 6 品目の内、5 品目は FDA や EMA 以外の規制当局によって先行して承認されていた（ブラジル、オーストラリア、ロシア、キューバ、ペルー、スイス）。内 2 品目はスイスで承認されており、いずれも細胞製剤であった。

表 6. 承認済みの癌治療ワクチン

抗原	製品名	企業名	標的抗原	癌種	開発状況	参考
樹状細胞	Provenge [®] (sipuleucel-T)	Dendreon Corporation	PAP	前立腺癌	承認（2010 年米国、 2013 年欧州）	1)
樹状細胞	DCVax [®] -Brain	Northwest Biotherapeutics, Inc.	自家腫瘍 細胞	悪性脳腫瘍	承認（2007 年スイス）、 III（米国）	9)
樹状細胞	HybriCell	Genoa Biotechnologia S.A.	自家腫瘍 細胞	腎癌、メラ ノーマ	承認（2005 年ブラジル）	10)
腫瘍細胞	M-Vax TM	AVAX Technologies, Inc.	自家腫瘍 細胞	メラノーマ	承認（2000 年オースト ラリア、2005 年スイ ス）、III（米国、欧州）	11), 12)
ペプチド	Oncophage [®] (vitespen)	Agenus, Inc.	HSPPC-9 6	腎細胞癌	承認（2008 年ロシア）、 申請失敗（2009 年欧州）	13), 14)
タンパク	CIMAvax EGF [®] (SAI-EGF)	Bioven Sdn. Bhd.	EGF	非小細胞肺 癌	承認（2008 年キューバ、 ペルー）、III（英国、マ レーシア）	15)

1) Provenge®の事例

Provenge®は患者から採取した末梢血単核球を、合成した prostatic acid phosphatase (PAP：前立腺酸性ホスファターゼ) 抗原と共に培養し、PAP 抗原を提示した状態の樹状細胞を患者に戻す治療法である。2006 年に初回申請を行い Phase III の 2 試験データ (D9901 及び D9902A) を提出したが、いずれも主要エンドポイントである time to progression (TTP：無増悪期間) に統計的な有意差が認められていなかった¹⁶⁾。しかしながら、生存期間の追加解析の結果、D9901 試験 (N=127) でプラセボに対し 4.5 ヶ月の差が認められ (中央値 25.9 vs. 21.4 ヶ月)、D9902A 試験 (N=98) でも同様の傾向が認められた¹⁷⁾。2007 年、FDA Cell Tissue and Gene Therapy Advisory Committee の議論の結果、FDA は評価症例数が少ないことと、統計的な説得力に欠けることから、ランダム化試験 (D9902B) における生存データを提出するよう要求した。その後、FDA の推奨に従い安全性に関する追加データを蓄積すると共に、Phase III (D9902B、N=512) でプラセボに対する生存の延長を統計的に証明した結果 (中央値 25.8 vs. 21.7 ヶ月)¹⁸⁾、2010 年に FDA によって承認された。

経緯	臨床データ
➤ 2006年 BLA (rolling submission)	<ul style="list-style-type: none"> Phase III P9901 プラセボ比較 Phase III P9902 プラセボ比較 => いずれもTTP統計的有意差なし
➤ 2007年 Recommendation of BLA amendment	
➤ 2009年 Amended BLA	さらなる安全性の観察・症例の蓄積を推奨 => プロトコール変更し完了
➤ 2010年 Approved	<ul style="list-style-type: none"> Phase III P9902B プラセボ比較 => OS有意差あり (25.8 mos vs. 21.7 mos)

2) DCVax®の事例

DCVax®は患者の末梢血単核球から抽出した樹状細胞と患者の腫瘍細胞を共に培養し、抗原を提示させた状態の樹状細胞を患者に戻す治療法である。悪性脳腫瘍を対象とした 2 つの Phase I の経過を基に、2007 年にスイスで承認された。これらのデータによって、標準治療に対して、腫瘍無増悪期間の延長または無再発期間の延長 ($P = 0.00001$)、及び生存期間の延長 ($P = 0.0015$) が示された⁹⁾。承認時に比較検証試験のデータはなかった。この承認に従い、製造は米国で行い、スイスの限られた医療機関で DCVax®の治療が可能となった。

経緯	臨床データ
<u>Switzerland</u> ➤ 2007年 Approved (available at select centers in Switzerland)	<ul style="list-style-type: none"> Two Phase I (UCLA) 新たにGBMと診断された19例 ⇒ <u>生存期間</u>中央値は33.8ヶ月(継続中) c.f. 新患:14.6ヶ月(報告) ⇒ <u>PFS</u> 18.1ヶ月

3) M-Vax™ の事例

M-Vax™ は自家腫瘍細胞をハプテンであるジニトロフェニルを結合させて患者に投与する治療法である。2000年にオーストラリアで承認されたが保険償還が認められず、製品のライセンスを得ていた AVAX Technologies の経済的理由によって2002年に市場から撤退した。その後、欧米での承認を目指して開発を継続している¹¹⁾。2005年にはスイスで上市された。オーストラリアとスイスではいずれも承認申請の際に Phase III は要求されず、比較検証試験データなしで Phase II を基に承認された。

経緯	臨床データ
<u>Australia</u> ➤ 2000年 Launched (Stage III melanoma) ➤ 2001年 Applied for reimbursement, but failed ➤ 2002年 Withdrawn due to financial constraints	<ul style="list-style-type: none"> Phase II
<u>Switzerland</u> ➤ 2005年 Launched (Stage III/IV melanoma)	<ul style="list-style-type: none"> Phase II 用法用量4群(214例) ⇒ Stage III 5年生存率44% c.f. 外科治療のみ:20-25%(報告) Phase II ⇒ Stage IV 腫瘍縮小効果 11/83(中間)

4) Oncophage® の事例

Oncophage®は自家腫瘍細胞から抽出した heat shock protein (HSP: 熱ショックタンパク質) の gp96 ペプチドである。患者に投与することで、HSP 受容体を介した樹状細胞の取り込み、さらには腫瘍に対する免疫反応の活性化を狙っている。腎細胞癌を対象に2008年にロシアで最初に承認された。欧州では2005年にオーファンドラッグに指定され、Part I (腫瘍評価フェーズ) とフォローアップ

ブ(生存フォローフェーズ)から構成される Phase III の内、Part I が完了後の 2008 年 9 月に EMA へ承認申請した。予め計画していたカットオフ日では disease-free survival (DFS：無病生存期間)、overall survival (OS：全生存期間) 共に有意な差は認められなかったが、申請後 2009 年 1 月のカットオフ日では高リスクの患者よりも中間リスクの患者で OS に有意な差が見られた (hazard ration (HR：ハザード比) = 0.541、P = 0.036)¹⁹⁾。しかしながら、Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP)によって、計画された有効性の証明ができなかったことや、オープン試験デザインのためバイアスが生じていることが懸念された。また、臨床試験実施中に説明できないプロトコール変更が複数あることや、プロトコール違反が多数見られた事等が指摘された¹⁹⁾。CHMP からのこれらの否定的な意見を受け、Oncophage[®]を開発していた Antigenics Therapeutics Ltd.は 2009 年 11 月に承認申請を取り下げた。

5) CIMAvax EGF[®]の事例

CIMAvax EGF[®]は遺伝子組換え髄膜炎菌のタンパクと融合した epidermal growth factor (EGF：上皮細胞増殖因子) 抗原で、EGF に対する免疫反応を活性化することを狙っている。1995 年以来臨床で研究しており、2008 年の承認時には非小細胞肺癌を対象にキューバで Phase I/II を 5 試験、ランダム化 Phase II 試験をキューバで 1 試験、カナダと英国 (UK) で 1 試験が完了し、Phase III 試験 1 試験がキューバで実施中であつた。800 例以上の患者で CIMAvax EGF[®]の投与を行っていた。Phase I/II ではワクチンに適するキャリアタンパクやアジュバントを含む用法用量を決定することを目的としていた。免疫原生も同様に確認された。そして、すべての Phase I/II を総合したデータによると、抗原抗体反応の良い患者、及び血清 EGF 濃度が顕著に減少した患者で生存が延長することが示された。Phase II では抗原抗体反応の良い患者、及び血清 EGF 濃度が顕著に減少した患者で生存が著しく延長することが統計的に示された (生存期間中央値：抗原抗体反応例 vs. 非反応例 = 11.8 カ月 vs. 4.5 カ月、P = 0.0009、及び、血清 EGF 濃度減少例 vs. 非減少例 = 11.8 カ月 vs. 6.9 カ月、P = 0.0192)¹⁵⁾。

2.3.4. 終了した Phase III 臨床試験の現状分析

表 7 に、Phase III が終了した癌治療ワクチンを示した。終了した Phase III 臨床試験は、承認済みの 3 品目で 5 試験、中止した 8 品目で 9 試験、開発中の 5 品目で 5 試験、開発状況不明の 3 品目で 4 試験あった。2 品目は異なる適応症で別々に開発されていたため、計 17 品目で 23 試験が終了していた。

図 8 に、終了した 23 試験の結果の成否を示した。23 試験の内、失敗した試験は 18 試験（78%）と大半を占めた。18 試験の内 17 試験は有効性で統計的な有意差が示されず、1 試験は他の適応症で行われていた Phase II で発現した予期せぬ重篤有害事象が影響し中止した事例であった。有効性で統計的な有意差が認められた試験はわずか 4 試験であった。残りの 1 試験は癌治療ワクチンの有効性を評価する目的ではなく、免疫薬理効果を検証するための試験であった。

表 7. 終了した癌治療ワクチンの Phase III 臨床試験

開発状況	製品名	癌種	腫瘍ステージ	終了 Phase III	結果	参考
承認	Provenge®	前立腺癌	No	III D9901	F (Efficacy)	1)
			No	III D9902A	F (Efficacy)	1)
			No	III D9902B	S	17)
			IMPACT			
承認	Oncophage®	腎細胞癌	Stage I, II, III, IV	III C-100-12	F (Efficacy)	13), 14)
承認	M-Vax	メラノーマ	Stage IIIb, IIIc	III	NA	11), 12)
開発中止	Canvaxin®	メラノーマ	Stage III	III MMAIT-III	F (Efficacy)	20)
			Stage IV	III MMAIT-IV	F (Efficacy)	20)
開発中止	PANVAC™-VF	膵癌	Stage IV	III	F (Efficacy)	21)
開発中止	Theratope®	乳癌	No	III	F (Efficacy)	22)
開発中止	L-BLP25	乳癌	No	III STRIDE	F (Safety)	23)
開発中止	Specifid™	非ホジキン リンパ腫	Grade 1, 2, 3 (WHO)	III	F (Efficacy)	24)
		非ホジキン リンパ腫	Stage III, IV	III	F (Efficacy)	25), 25)
開発中止	GM2-KLH	メラノーマ	Stage IIb, III, IV	III	F (Efficacy)	26)
開発中止	BEC2	小細胞肺癌	No	III SILVA	F (Efficacy)	27)
不明	Insegia™	膵癌	No	III（単剤）	S	28)
			Stage II, III, IV	III（併用）	F (Efficacy)	28)
不明	OTS-102	膵癌	No	II/III PEGASUS-PC	F (Efficacy)	29)
不明	Oncophage®	メラノーマ	Stage IV	III C-100-21	F (Efficacy)	30)
開発中	OncoVAX®	大腸癌	Stage II, III	IIIa 8701	S	31)
開発中	Allovectin®-7	メラノーマ	Stage III, IV	III (low-dose)	F (Efficacy)	32)
開発中	GV1001	膵癌	No	III PrimoVax	F (Efficacy)	33)
開発中	L-BLP25	非小細胞肺 癌	Stage IIIa, IIIb	III START	F (Efficacy)	34)
開発中	BiovaxID®	非ホジキン	Grade 1, 2, 3a	III	S	25),35),
		リンパ腫	/Stage III, IV			36),37)

No: 腫瘍ステージの分類をしていない, S: Success (臨床試験の主要エンドポイント達成), F: Failure (臨床試験の主要エンドポイントの未達)

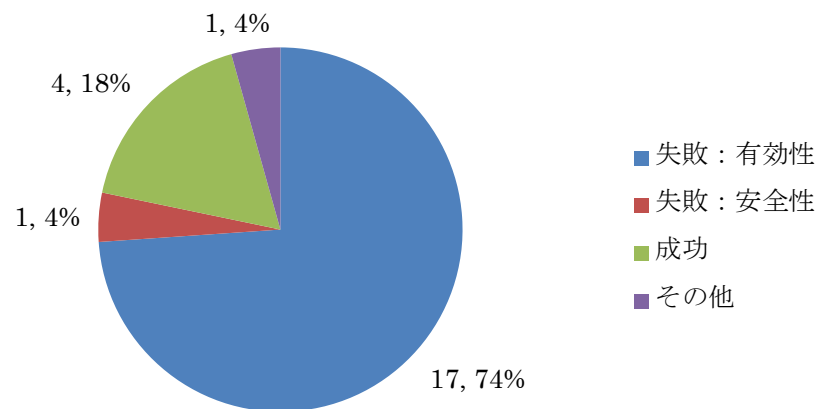


図 8. 癌治療ワクチン Phase III 臨床試験の結果

2.3.5. 終了した Phase III 臨床試験の失敗事例分析

表 8 に、Phase III 失敗事例から示唆された失敗の原因を、論文の考察及び論文で報告されていたサブ解析結果から取りまとめた。ただし、サブ解析は臨床試験の主目的ではない解析、または、本来計画されていない事後的な解析である。科学的な証明としては不十分であるため、論文中の考察と同様に扱い、事例の傾向を把握するために参考にした。調査の結果、既存の文献から抽出できた 13 試験中 11 試験（85%）で、対象集団の多様性が Phase III の失敗の主要因と考察されていた。指摘されていたばらつきの項目は、患者間の腫瘍組織量が 6 試験、免疫反応が 6 試験、併用療法による影響が 1 試験であった。図 9 で、腫瘍組織量及び免疫反応が特に多いことが示された。

また、抗原性を増強するためにアジュバントを利用していた試験が 8 試験あった。その内アジュバントの効力不足が考察されていた試験が GM2-KLH で 1 試験あった。GM2 はメラノーマ細胞に発現するガングリオシドで、Phase III 臨床試験では Th2 を介する液性免疫の誘導を強化するために QS-21 アジュバントと併用して行われた。この Phase III 臨床試験から、GM2-KLH 群はコントロール群よりも OS が悪いという結果が得られた。この結果に対し、BCG アジュバントのように Th1 を介する免疫反応は癌に対するアウトカムが良い一方、Th2 優勢の場合は免疫反応に弊害があるのではないかと推論されている³⁸⁾。

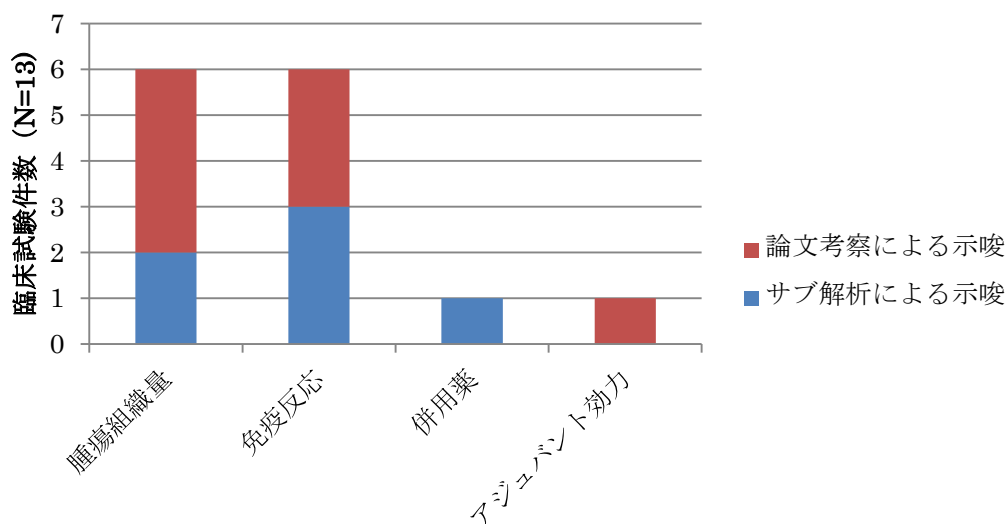


図 9. 癌治療ワクチン Phase III 失敗事例から示唆された失敗要因

表 8. 癌治療ワクチン Phase III 臨床試験の失敗の要因

製品名	癌種	レジメン	サブ解析	論文考察	参考
Oncophage [®]	腎細胞癌	単剤	腫瘍ステージによるサブ解析の結果、中間リスクの患者で RFS 及び OS が Oncophage 群で改善することが示唆された。	集団の多様性 (腫瘍組織量)	13), 22), 14)
Oncophage [®]	メラノーマ	単剤	腫瘍ステージによるサブ解析の結果、M1a 及び M1b で生存の延長の傾向が認められた。	集団の多様性 (腫瘍転移)	13), 30)
Canvaxin [®]	メラノーマ (Stage III)	BCG 併用	腫瘍ステージ、HLA 発現の層別化データなし。ただし、HLA と臨床効果との相関が示唆された。	集団の多様性 (腫瘍組織量、免疫反応)	20), 22)
Canvaxin [®]	メラノーマ (Stage IV)	BCG 併用	腫瘍ステージ、HLA 発現の層別化データなし。	集団の多様性 (腫瘍組織量、免疫反応)	20), 22)
GM2-KLH	メラノーマ	QS21 併用	NA	アジュバント効力の欠如	38)
Theratope [®]	転移性乳癌	Enhanzyn TM 併用	併用療法によるサブ解析の結果、ホルモン製剤を併用すると OS 及び TTP が延長する傾向が見られた。	集団の多様性 (併用療法)	22), 39)
BEC2	小細胞肺癌	BCG 併用	GD3 に対する液性免疫反応例は無反応例よりも生存が延長。	集団の多様性 (免疫反応)	22), 27)40)
Specifid TM	非ホジキンリンパ腫	GM-CSF 併用	腫瘍ステージの層別化データなし。ただし、解析集団に FLIPI スコアの不均衡があった。	集団の多様性 (腫瘍組織量)	24)25) 41)42)
MyVax [®]	非ホジキンリンパ腫	GM-CSF 併用	MyVax [®] 群で免疫反応例は無反応例よりも有意に PFS が延長。	集団の多様性 (免疫反応)	25)43) 44)46)
PANVAC-VF	進行性膀胱癌	GM-CSF 併用	対象とした膀胱癌の第二選択治療の OS は一般に 3 ケ月もない。	集団の多様性 (腫瘍組織量)	22)45)
Allovectin-7 [®]	メラノーマ	ダカルバジン併用	NA	用量不足 (低用量)	32)
Insegia TM	膀胱癌	単剤	G17DT に対する液性免疫反応例は無反応例よりも生存が延長。	集団の多様性 (免疫反応)	28)
Insegia TM	膀胱癌	ゲムシタビン併用	G17DT に対する液性免疫反応による層別化データなし。	集団の多様性 (免疫反応)	28)

事前に予定されていた解析でなかったため試験は失敗に終わったが、対象集団を層別化したサブ解析によって有効性が示唆された試験を表 9 に示した。計 6 試験の内 2 試験は American Joint Committee on Cancer (AJCC : 米国がん合同委員会) / Union for International Cancer Control (UICC : 国際対がん連合) TNM 分類による層別化、3 試験は免疫反応による層別化、1 試験は併用薬による層別化で解析を行った結果、特定の集団で有効性が示唆された。

【腫瘍ステージ】

腎細胞癌を対象とした Oncophage[®]の臨床試験では、中間リスクを AJCC TNM 分類の Stage I/II 高グレードまたは Stage III T1/2/3a 低グレード、高リスクを Stage III T1/2/3a 高グレード、T3b、T3c または Stage IV と定義して層別解析を行った結果、中間リスクの患者は高リスクの患者より recurrence-free survival (RFS : 無再発生存期間) 及び OS が改善した¹⁴⁾。

メラノーマを対象とした Oncophage[®]の臨床試験では、AJCC TNM 分類の Stage IV メラノーマを選択して行われていたが、探索的に AJCC TNM 分類の M1a, M1b, M1c にさらに細分化して層別解析を行った結果、M1a と M1b で生存の延長傾向が認められた³⁰⁾。

【免疫反応】

BEC2 はガングリオシド抗原である GD3 を模倣した抗イディオタイプ抗原である。ガングリオシドは細胞膜表面に存在し、シグナル伝達や細胞間相互作用に関連している。小細胞肺癌を対象とした BEC2 の臨床試験では、治療前及び治療後の GD3 に対する抗原抗体反応を enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA : 酵素免疫吸着測定法) で測定し、治療後に 2 回以上継続して一定以上の力価が認められた患者を反応例と定義していた²⁷⁾。その結果、反応した群は反応しなかった群よりも生存が延長していた (19.2 ケ月 vs. 13.9 ケ月; $P = 0.0851$)²⁷⁾。

Insegia[™] はガストリン刺激性の腫瘍増殖を阻害する抗ガストリン α 17 免疫原抗体 (G17DT) である。膵癌で実施された Insegia[™] の Phase III 臨床試験では、G17DT に対する抗原抗体反応が示された群の方が、反応しなかった群よりも生存が延長していた ($P = 0.003$)²⁸⁾。

MyVax は B 細胞リンパ腫に発現する免疫グロブリンの idiotype (Id : イディオタイプ) である。生体内の抗 Id 抗体の誘導を ELISA で測定し、液性免疫反応を評価していた。その結果、液性免疫反応を示した群が反応しなかった群よりも progression-free survival (PFS : 無増悪生存期間) が延長した (8.21 vs. 3.38 年、 $P = 0.018$)⁴⁶⁾。

【併用療法】

転移性乳癌を対象とした Theratope[®]の臨床試験では、1028 例中 350 例（34%）がホルモン治療を併用していた³⁹⁾。ホルモン治療の有無によって層別解析を行った結果、ホルモン治療を併用しない場合、Theratope[®]群とコントロール群の差は認められなかったが、ホルモン治療を併用した場合、Theratope[®]群はコントロール群よりも TTP が良好である傾向が報告されていた（8.3 vs.5.8 カ月、P = 0.22）。

表 9. 癌治療ワクチン Phase III 失敗事例のサブ解析結果

製品名	癌種	腫瘍状態	サブ解析	参考
Oncophage [®]	腎細胞癌	Stage I, II, III, IV	腫瘍ステージ：中間リスクの患者で RFS 及び OS が Oncophage 群で改善することが示唆された。再発イベントは Stage I/II で 19 ケ月（15.2%）、観察群で 31 ケ月（27.0%）（HR = 0.576; P = 0.056）。	13),22),14)
Oncophage [®]	メラノーマ	Stage IV	腫瘍ステージ： M1a 及び M1b で生存の延長傾向が認められた（M1c では認められなかった）。M1a と M1b を合計すると対照群に対して HR = 0.45; 95% CI, 0.21 to 0.96; P = 0.03。	13),30)
Theratope [®]	転移性乳癌	化学療法に対して CR/PR/SD	併用療法： ホルモン製剤を併用すると OS 及び TTP が延長する傾向が見られた。	22),39)
BEC2	小細胞肺癌	化学放射線療法に対して CR/PR	GD3 に対する液性免疫反応： 反応例は無反応例よりも生存が延長した（19.2 ケ月 vs. 13.9 ケ月; P = 0.0851）。	22),27),40)
Insegia TM	膀胱癌	化学療法不適・無希望	G17DT に対する液性免疫反応： 反応例は無反応例よりも生存が延長した(P = 0.003)。	28)
MyVax [®]	非ホジキンリンパ腫	Stage III, IV・化学療法に対して CR/PR	免疫反応： MyVax [®] 群で免疫反応例は無反応例よりも有意に PFS が延長した。	43),44),46)

2.4. 考察

2.4.1. 癌治療ワクチン開発の障壁となる開発フェーズ

癌治療ワクチンは特異的能動免疫療法として免疫系に影響を与え、既存の治療法にはない新しい治療法として期待されている。ただし、有効性が証明できた癌治療ワクチンはわずかである。

一般的な抗癌剤では Phase III 成功確率が約 40%、承認の成功確率が約 70% であることから、Phase III から承認までの成功確率は約 28% と想定できる⁴⁷⁾。臨床試験の傾向分析より、Phase II までは多くの研究が進行しているものの、Phase III の件数が著しく低く、Phase III の障壁が高いことが分かった。また、開発ステージが Phase III 以降の癌治療ワクチン 31 品目の内、承認済みは 6 品目であった (19%)。従って、一般的な抗癌剤の成功確率と比較しても、癌治療ワクチンの成功確率は低いと考えられる。癌治療ワクチンの 2009 年以降 Phase I、Phase I/II の臨床試験開始件数が減少傾向にあるのは、公的機関あるいは医療機関による臨床試験の減少が背景にあることが示された。また、Phase III の多くが企業の関与があった臨床試験であることから、Phase III が実施された製品を洗い出し、その開発の経緯を紐解くことによって、Phase II から Phase III への移行を阻害する要因が特定できると考えられた。

2.4.2. 癌治療ワクチンの承認要件及び上市条件

癌治療ワクチンの承認事例を調査した結果では、FDA、EMA、PMDA のいずれかに承認されたものは 6 品目中 1 品目のみであった。2 品目はスイスで承認され、残りはロシア、キューバ、ペルー、ブラジル、オーストラリアで承認されていた。しかしながら、承認時に Phase III の比較検証試験で有効性が統計的に証明されていた事例は、FDA によって承認された Provenge[®] 1 品目のみであった。また、スイスで承認された事例はいずれも樹状細胞や自家腫瘍細胞を投与する細胞製剤であった。スイスで承認された DCVax[®] のように、上市後は限られた医療機関での利用に限定していた事例もあった。このことから、癌治療ワクチンの承認要件は国際的に統一されているとはいえず、承認後の上市条件も異なることが分かった。

癌治療ワクチンの効果は宿主免疫反応を介しており、既存治療法の有効性評価方法の考え方が適用できない点が考えられる。このために、癌治療ワクチンの臨床評価法には未だ課題があり、各国で見解を統一するまでに至っていない状況が推察される。

2.4.3. 癌治療ワクチンの失敗原因

本研究では、癌治療ワクチンの Phase III の 74% (12/23 試験) が主要エンドポイントにおいて有効性が統計的に証明されていないことが明らかとなった。さらに、開発ステージが Phase III 以降の品目の事例分析から、結果的に目的が達成できなかった臨床試験の中には、適切な対象集団で適切な評価方法を用いてデザインされていなかったために有効性が証明できず、医薬品開発の成功の機会を失っている場合があることが推察された。中でも、臨床試験に組み入れた対象患者の多様性が主な原因であることが分かった。例えば、リンパ腫患者を対象とした SpecifidTM において、Phase II で rituximab に匹敵する効果が示されていたにもかかわらず、rituximab を 4 週間投与後のリンパ腫患者を対象とした Phase III では SpecifidTM 群の TTP はプラセボ群よりも短かった (HR = 1.384; P = 0.019)²⁴⁾。この原因として、濾胞性リンパ腫の予後分類である FLIPI score の不均衡である可能性が報告されている。ただし、治療歴のない患者 (HR = 1.196; P = 0.258)、あるいは rituximab 投与後に complete response (CR : 完全寛解) または partial response (PR : 部分寛解) の患者 (HR = 1.352; P = 0.142) では 2 群間の差は認められなかった²⁴⁾。しかしながら、B 細胞に発現する CD20 に対するモノクローナル抗体である rituximab を前治療とすることによって液性免疫が正常に機能しなくなった可能性、あるいは regulatory T cell (Treg: 制御性 T 細胞) や TGF- β といった免疫抑制因子の存在の影響に関する評価は行われていなかった。その他、Dalglish ら、Finke らによって、癌治療ワクチンの開発において、Phase I や Phase II の結果が有望であっても Phase III で必ずしも良い結果が得られない事例が報告されている^{22), 38)}。

今回の調査によって、事前に予定されていた主解析で統計的に有効性が証明されなかったが、副次的に実施された層別解析によって有効性が示唆された試験が 6 試験あった。その内 2 試験は AJCC/UICC TNM 分類、3 試験は免疫反応、1 試験は併用薬によって層別化して解析を行った結果、有効性が示唆された。つまり、予備的な考察ではあるが、腫瘍ステージ、免疫反応、併用薬にばらつきがあることが臨床試験の失敗の一因となることが示唆され、あらかじめ患者を適切に分類していれば、有効性が証明されていた可能性が推察された。

以上の結果より、臨床試験において腫瘍ステージ、免疫反応、併用薬などが多様な患者を許容する選択基準となっていたり、層別解析が欠如あるいは不適切であると、癌治療ワクチンによって誘導される効果が検出できない可能性があることが明らかとなった。

2.5. 小括

本章では、ClinicalTrials.gov に登録された癌治療ワクチンの臨床試験件数及び開発品目数を調査し、癌治療ワクチンの開発傾向を分析すると共に、各事例を紐解いて開発を促進する上での課題を抽出した。

2005 年から 2011 年までの臨床試験の累計数から、約 85%が Phase II までの早期フェーズであり、Phase III はわずか 6%であることが分かった。2012 年 6 月 25 日時点で開発ステージが Phase III に達した品目は 31 品目あったが、少なくとも 8 品目 (26%) が開発中止となっていた。開発中止のきっかけとなる臨床試験の成否に着目したところ、終了した Phase III 試験 23 試験中、少なくとも 17 試験 (74%) が有効性の未達で失敗に終わっていた。そこで、有効性未達の原因を検討するため、調査可能な 13 試験の事例を調査すると、6 試験 (46%) が事後的に対象集団を層別化して実施したサブ解析によって有効性が示唆されていた。さらに、臨床試験に組み入れた患者間の腫瘍組織量や免疫反応など対象集団にばらつきがあるため、治療効果を明確に表すことができず、有効性を統計的に証明できないことが Phase III 試験失敗の原因であったことが仮説として導き出された。

第3章 癌治療ワクチンの開発を成功させるための 患者選択に関する分析

3.1. 目的

本章の目的は、個々の腫瘍組織量や免疫反応などの多様性を考慮せず患者を選択することが、癌治療ワクチンの Phase III が失敗する一因であるという仮説を証明することである。失敗の原因を特定し、近年の研究結果を踏まえて改善機会を明らかにすることによって、癌治療ワクチンの開発を成功させるために有用な示唆を得ることを期待した。

3.2. 背景（免疫反応に影響を与える細胞）

腫瘍の増殖、浸潤、転移において、腫瘍微小環境が重要な役割を果たしている。腫瘍微小環境は細胞（繊維芽細胞、免疫細胞、内皮細胞を含む）、サイトカイン等の生物活性物質（各種インターロイキン、transforming growth factor (TGF：形質転換増殖因子)- β を含む)、細胞外マトリックス（コラーゲン、フィブロネクチンを含む）に取り囲まれている。腫瘍微小環境のこれらの構成要素は腫瘍細胞と相互作用し、腫瘍形成や腫瘍の進行に深く関わっている。特に腫瘍細胞と tumor infiltrating lymphocyte (TIL：腫瘍浸潤リンパ球) の相互作用は、腫瘍に対する免疫反応に重要であり、癌治療ワクチンなどによって誘導される細胞性免疫反応や液性免疫反応に、様々な示唆をもたらす。

1) リンパ球

T リンパ球は表現型によって多様なサブセットに分類される。様々な活性の中でも、CD8⁺細胞傷害性 T 細胞は免疫系を刺激して、TNF- α などのサイトカインを産生し、腫瘍細胞表面上の細胞死受容体 CD95 (Fas) の発現を促進する。一方、活性化エフェクターT細胞には Fas リガンドが発現している。Fas に Fas リガンドが結合すると、カスパーゼを活性化し、アポトーシスを誘導する。CD4⁺ヘルパーT細胞は一般に Th1 と Th2 と呼ばれる2つの異なる機能を持つ細胞に分化する。Th1 細胞が細胞性免疫反応を刺激するのに対し、Th2 細胞は B リンパ球の分化に重要な役割を果たし、抗原産生形質細胞の形成を促進する。細胞傷

害性 T 細胞とヘルパーT 細胞共に、細胞表面上に単一特異的な T cell receptor (TCR:T 細胞受容体)を発現し CD3 と結合して TCR・CD3 複合体を形成する。Treg 細胞はTリンパ球のサブセットとして特徴的であり、CD4、CD25 及びFOXP3 を発現するが、これらの細胞は TGF- β 、IL-10 といった免疫抑制サイトカインを高度に産生し、従来型の CD8⁺や CD4⁺ T リンパ球の活性を強く阻害する。

多くの自主研究において、特定のリンパ球サブセットの腫瘍病変への浸潤が予後に影響することが示されている。たとえば、Gooden 等によると、腫瘍病変中の CD3⁺または CD8⁺ T 細胞の増加が生存に関連するのみならず(各 HR = 0.58, 0.71)、特定の TIL のサブセット比率が腫瘍内レベルの絶対値よりも役立つことが示唆された⁴⁸⁾。同様に、Fridman 等は腫瘍内の高レベル CD3⁺、CD8⁺、CD45RO⁺ T 細胞が生存の延長に関連することを示している⁴⁹⁾。この概念を応用し、Galon 等は、予後及び効果を予測する指標として、原発巣の中央部または浸潤辺縁部の CD8⁺及び CD45RO⁺細胞の密度を考慮した、免疫スコアを提案している⁵⁰⁾。

血中に循環するリンパ球は抗腫瘍免疫反応を示すとともに、疾患の転帰に関する情報を与える。いくつかの報告によって、既に抗腫瘍免疫が存在する患者の方が存在しない患者よりも、癌治療ワクチン治療後の血中リンパ球の活性が高いことが示されている。特に、Reynolds 等によると、既に抗腫瘍免疫反応があったメラノーマ患者では、癌治療ワクチン投与後に tumor-associated antigen (TAA: 腫瘍関連抗原)、つまり melanoma-associated antigen 3 (MAGE-A3: メラノーマ抗原ファミリーA, 3) に特異的な血中 CD8⁺ T 細胞のレベルの増加が著しく認められた (P = 0.0007)⁵¹⁾。同様に、Speiser 等は主に内因性 TAA によって T 細胞が既に活性化されているメラノーマ患者でメラノーマ関連ペプチドワクチンに対する CD8⁺ T 細胞の反応が認められることを報告している⁵²⁾。そして、免疫療法に反応した患者は治療前に既に活性化している免疫細胞の割合が著しく高いことを示した (P < 0.01)。

2) 悪性細胞

悪性腫瘍の病期は AJCC/UICC によって定義された TNM 分類が用いられることが多い。TNM 分類は原発巣の大きさや浸潤程度を T0~T4、所属リンパ節転移の程度を N0~N3、遠隔転移の有無を M0、M1 で示す。腫瘍の種類ごとにこれらを定義し、腫瘍の進行度を Stage I~Stage IV で定めている。

一般に、腫瘍組織量が多い場合、癌治療ワクチンの臨床アウトカムに対する効果が減弱することが知られている。しかも、しばしば進行性腫瘍は、免疫抑制効果をもたらす Treg 細胞と myeloid-derived suppressor cell (MDSC: 骨髄由来抑制細胞) が顕著に認められる。小林らは、肝細胞癌が悪化する間に FOXP3⁺Treg

細胞が段階的に増加することを報告している⁵³⁾。同様に、Diaz-Montero らは血中 MDSC が AJCC/UICC TNM 分類によって定義された固形癌ステージに相関することを示している⁵⁴⁾。

癌治療ワクチンは即座に腫瘍縮小効果をもたらすものではなく、腫瘍増殖を抑え時間をかけて生存を延長させる特徴があることから、腫瘍組織量の少ない患者の方が癌治療ワクチンの治療に有利であることが推察されている⁵⁵⁾。

3.3. 方法

第 2 章で抽出した癌治療ワクチンの Phase III 臨床試験に基づき、癌治療ワクチンの製品を特定した。これらの製品に関して、PubMed で検索可能な文献及び企業の公表から、臨床試験デザイン、対象症例、試験結果に関する情報を得た。

終了した Phase III 臨床試験を対象に、患者選択基準に腫瘍ステージ及び免疫環境が含まれるか調査し、それら臨床試験の成否結果を分析した。さらに、失敗した Phase III 臨床試験で対象としていた患者集団及び治療の位置付けを調査し、患者選択に関する失敗原因に対する考察を行った。また、当該製品について、Phase III のみでなく Phase I、II まで遡り抗腫瘍免疫反応と臨床アウトカムの関連を評価した事例を特定し、評価した開発フェーズ及びその結果を調査し、患者選択に関して予後因子の観点から考察を行った。

3.4. 結果

3.4.1. 臨床試験中の患者選択基準に関する現状分析

第2章で、癌治療ワクチンの Phase III 臨床試験の内終了した 23 試験を特定し、それが 17 品目に該当することを特定した。18 試験が主要エンドポイントに達しなかった一方、4 試験は成功していた。残りの 1 試験は免疫薬理分析のための検証試験であった。ここでは、有効性を評価した 22 試験（16 品目）を母集団として分析を行った。

表 10 では終了した Phase III 臨床試験の選択基準を調査し、患者の腫瘍ステージあるいは免疫環境に基づき患者選択を行っていた臨床試験を特定した。その結果、22 試験中 13 試験（59%）が登録時に腫瘍ステージを活用して患者を選択していた。腫瘍ステージに基づき患者選択を行った 13 試験中 11 試験は Phase III 臨床試験で有効性が証明できなかった。腫瘍ステージによる患者選択を行い、かつ有効性が証明できた Phase III 臨床試験は 2 試験のみであった。

表 10. 終了した癌治療ワクチン Phase III 臨床試験における患者選択

患者選択基準	臨床試験件数		主要エンドポイント達成状況	
腫瘍ステージ (N=22)	患者選択で活用した Phase III 臨床試験	13 試験	Phase III 成功事例	2 試験
			Phase III 失敗事例	11 試験
	患者選択で活用しな かった Phase III 臨床試験	9 試験	Phase III 成功事例	2 試験
			Phase III 失敗事例	7 試験
免疫環境 (N=22)	患者選択で活用した Phase III 臨床試験	0 試験	Phase III 成功事例	0 試験
			Phase III 失敗事例	0 試験
	患者選択で活用しな かった Phase III 臨床試験	22 試験	Phase III 成功事例	4 試験
			Phase III 失敗事例	18 試験

Phase III が失敗した 18 試験の内、公表論文のある調査可能な試験は 13 試験あった。表 11 に、これら失敗事例の対象患者及び治療の位置付けをまとめた。13 試験中 9 試験 (69%) は、癌治療ワクチン投与前に手術もしくは化学療法を実施して腫瘍組織量を減少させる試験デザインとなっていた。9 試験の内 5 試験 (38%) は術後補助療法として癌治療ワクチンを使用し、4 試験 (31%) は抗癌剤の導入治療後に使用していた。

抗癌剤の導入治療を用いる場合、導入治療後 CR/PR/SD (stable disease : 病態の安定) または CR/PR の患者に対して、癌治療ワクチンの投与を行っていた。抗癌剤の導入治療について、転移性乳癌を対象とする Theratope[®]の臨床試験では特に薬剤を規定しておらず、導入治療で CR/PR/SD と判定された患者を対象とされていた²²⁾。非ホジキンリンパ腫を対象とする MyVax[®]の臨床試験では化学療法の後、CR または PR と判定された患者のみランダム化していた²⁵⁾。小細胞肺癌を対象とした BEC2 の臨床試験では、導入化学放射線療法によって CR または PR と判定された患者を選定して組み入れていた²⁷⁾。非ホジキンリンパ腫を対象とする SpecifidTM では、臨床試験に参加後、rituximab 375mg/m² を週 1 回 4 週間投与し、CR/PR/SD の患者をランダム化していた²⁴⁾。

調査対象とした 13 試験中、Oncophage[®]の腎細胞癌とメラノーマの臨床試験 2 試験では、さらに細分化した腫瘍ステージ分類で探索的に解析した結果、有効性が示唆されていた。

Oncophage[®]腎細胞癌 (Stage I, II, III, IV)

観察群に対して Oncophage[®]投与群は再発に統計的な有意な差は認められなかった。一方、Stage I/II high-grade または Stage III T1/2/3a low-grade を中間リスク、Stage III T1/2/3a high-grade、T3b、T3c または Stage IV を高リスクとして層別化し、探索的にサブ解析を行った。その結果、中間リスクの患者では Oncophage[®]投与群の再発イベントが少なく (HR = 0.589, P = 0.026)、死亡例が少ない傾向が見られた (HR = 0.608, P = 0.126)¹⁴⁾。

Oncophage[®]メラノーマ (Stage IV)

プロトコールに既定の解析の結果、医師選択の治療を実施する群に対して、Oncophage[®]投与群は生存について有意な差は見られなかった。さらに、腫瘍ステージを細分化してサブ解析を実施したところ、AJCC/UICC TNM 分類の M1a (HR = 0.56, P = 0.31) と M1b (HR = 0.39, P = 0.09) で生存が延長する傾向が認められた一方、M1c では生存の延長傾向が認められなかった (HR = 1.08, P = 0.81)。M1a と M1b を合わせたデータでは、対照群に対して有意な差が認められた (HR = 0.45, P = 0.03)³⁰⁾。

表 11. 癌治療ワクチン Phase III 失敗事例における対象患者

製品名	癌種	腫瘍ステージ	前治療・併用療法	参考
Oncophage [®]	腎細胞癌	Stage I, II, III, IV	術後補助療法	13),14)
Oncophage [®]	メラノーマ	Stage IV	術後補助療法	30)
Canvaxin [®]	メラノーマ	Stage III	術後補助療法	20)
Canvaxin [®]	メラノーマ	Stage IV	術後補助療法	20)
GM2-KLH	メラノーマ	Stage II	術後補助療法	26)
Theratope [®]	転移性乳癌	特になし	第二選択治療 (化学療法に対して CR/PR/SD)	22)
BEC2	小細胞肺癌	特になし	第二選択治療 (化学放射線療法に対して CR/PR)	27)
Specifid TM	非ホジキンリンパ腫	Grade* 1, 2, 3	未治療または再発難治性→リツキシマブに対して CR/PR/SD	24)
MyVax [®]	非ホジキンリンパ腫	Stage III, IV	未治療→化学療法に対して CR/PR	25)
PANVAC-VF	進行性膵癌	Stage IV	ゲムシタビン無効・第二選択治療	56)
Allovectin-7 [®]	転移性メラノーマ	Stage III, IV	第一選択薬併用 (dacarbazine)	32)
Insegia TM	膵癌	特になし	化学療法不適または無希望	28)
Insegia TM	膵癌	Stage II, III, IV	第一選択薬併用 (gemcitabine)	28)

CR: complete response, PR: partial response, SD: stable disease

*WHO グレード

3.4.2. 免疫反応と臨床アウトカムを評価する開発フェーズに関する傾向分析

Phase III が終了した 23 試験のうち、15 試験（8 品目）は癌治療ワクチン投与後の免疫反応と臨床アウトカムの相関または関連を評価していた。臨床アウトカムとは、OS、PFS、TTP といったイベントまでの期間を示す。図 10 に、癌治療ワクチンの免疫反応と臨床アウトカムの評価を行った開発フェーズを示した。これらは Phase II で最もよく評価されていた（7 試験）。Phase III で評価していたのは 4 試験のみであった。残りの 4 試験は開発フェーズを明確に言及していなかったため、不明とした。

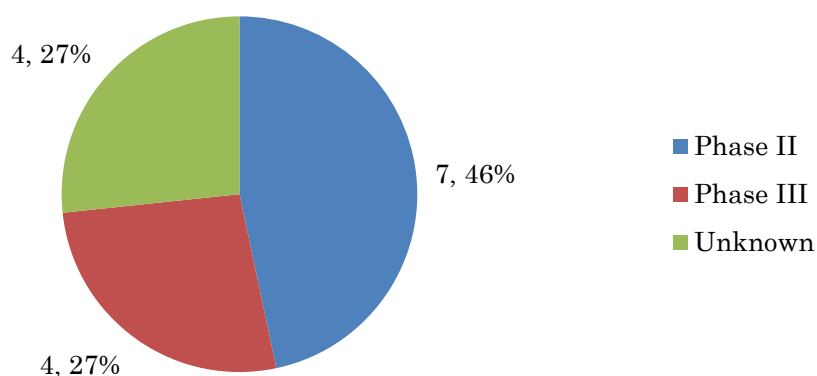


図 10. 癌治療ワクチンの免疫反応と臨床アウトカムを評価する開発フェーズ

3.4.3. 治療後の免疫反応と臨床アウトカムの評価における傾向分析

Phase III が終了した製品で、免疫反応（液性免疫、細胞性免疫）と臨床アウトカムの関係を分析した臨床試験を対象に調査を行った。対象となる製品は 8 品目で、臨床試験は 15 試験あった。その内、免疫反応と臨床アウトカムの相関を示すために検定を行った試験は 13 試験あった。2 試験は事例を蓄積したのみで、統計解析は行っていなかった。検定を行った 13 試験の内、Kaplan-Meier で生存期間を推定した後、Log-rank 検定を実施しているものが 13 試験（100%）、種々の調整因子を入れて Cox 回帰まで実施しているものが 6 試験（46%）あった。

表 12 に、これらの免疫反応と臨床アウトカムの分析方法とその結果を示した。ただし、相関が証明されなかった場合、論文として発表されない場合がある。従って、相関の有無の比率にはバイアスが生じていることが考えられる。

Log-rank 検定を行った 13 試験中 12 試験（7 品目）で免疫反応と臨床アウトカムとの相関が認められた。それにもかかわらず、終了した Phase III 試験で主要エンドポイントが達成された癌治療ワクチンはこれらのうちわずか 2 品目（Provenge[®] 及び Insegia[™] 単剤）であった。

Cox 比例ハザードモデルを実施した 6 試験（3 品目）ではすべて免疫反応が予後因子であることが示された。しかしながら、これらの癌治療ワクチンのうち終了した Phase III 試験で主要エンドポイントが達成された品目はなかった。

表 12. 癌治療ワクチンの免疫反応と臨床アウトカムの分析種類

解析タイプ	解析法	ポジティブな検定結果		Phase III 成功 品目数
		試験数	品目数	
単変量解析	Log-rank 検定	12/13	7	2
多変量解析	Cox 比例ハザードモデル	6/6	3	0

表 13. 癌治療ワクチン臨床試験における相関分析結果 (Log-rank 検定)

製品名	癌種	フェーズ	評価結果	相関	参考
Provenge [®]	前立腺癌	I/II	TTP は PAP に対する免疫反応と樹状細胞の用量に相関した。	Y	57)
		III (IMPACT)	ベースラインより PA2024 または PAP に対する抗体価が 400 以上の患者で生存が延長した (P<0.001、P=0.08)。	Y	17)
Canvaxin [®]	メラノーマ (Stage IV)	II	5 年生存率は、抗 TA90 IgM の増加及び強い DTH 反応が両方見られた場合 75%、IgM 反応及び DTH 反応いずれかに反応した場合 36%、いずれも反応しなかった場合 8%であった (P<0.001)。	Y	58)
	メラノーマ (Stage II)	II	抗 TA90 IgM レベル (1:800 以上) と 5 年 DFS 及び 5 年生存率が相関した。	Y	58)
	メラノーマ (Stage IIIa, IV)	II 以降	生存が DTH 及び抗体反応に相関した (P=0.0066 及び P=0.0117)。	Y	59)
Specifid TM	非ホジキンリンパ腫	II	抗 Id 免疫反応と奏効率または EFS は相関がみられなかった。	N	42)
BEC2	小細胞肺癌	III	免疫応答例は非応答例よりも生存が延長した (19.2 vs. 13.9 ヶ月、P=0.0851)。	Y	27)
Insegia TM	膵癌	II	抗体反応例は非反応例よりも生存が延長した (217 vs. 121 日、P=0.0023)。	Y	60)
		III (単剤)	抗 G17DT 反応例は非反応例またはプラセボよりも生存が延長した (176 vs. 63 vs. 83 日、P=0.003)。	Y	61)
M-Vax TM	メラノーマ	III 以前	DTH 反応例は非反応例よりも 5 年生存率が改善した (71% vs. 49%、P=0.031)。	Y	5)
		III	DTH 反応例は非反応例よりも生存率が改善した (25.2% vs. 12.3%、P<0.001)。	Y	12)
MyVax [®]	非ホジキンリンパ腫	III 以前	液性免疫反応例は非反応例よりも PFS が延長した (8.21 vs. 3.38 年、P=0.018)。 Fc	Y	46)
Theratope [®]	乳癌	II	抗 STn ⁺ ムチン IgG が中央値より高値の場合低値よりも生存が延長した。	Y	63)

表 14. 癌治療ワクチン臨床試験における関連分析結果
(Cox 比例ハザードモデル)

製品名	癌種	フェーズ	評価結果	関連	参考
Canvaxin [®]	メラノーマ (Stage IV)	II	抗 TA90 IgM の増加と強い DTH は生存 と関連があった (P = 0.03、P = 0.008)。	Y	58)
	メラノーマ (Stage II)	II	抗 TA90 IgM は OS と DFS の独立した予 後因子であった。	Y	58)
	メラノーマ (Stage IIIa, IV)	II 以降	転移 (P = 0.0001) と免疫治療 (P = 0.0001) は予後因子であった。	Y	59)
M-Vax TM	メラノーマ	III 以前	DTH 反応しないことと OS は関連して いた (HR = 2.54、P = 0.0080)。年齢調整 後の RFS 及び OS は統計的に関連 (P = 0.029、P = 0.036)。	Y	5)
		III	DTH 反応例は RFS と OS に関連してい た (P = 0.015、P = 0.009)。	Y	12)
MyVax [®]	非ホジキンリン パ腫	III 以前	バリン-バリン遺伝子型及び液性免疫反 応は独立した PFS 予後因子であった (P = 0.0013、P = 0.0015)。	Y	46)

試験中に実施された免疫反応測定は、主にベースライン値に対する投薬後の免疫反応の変化を測定することを目的としていた。既存の免疫反応を測定した臨床試験が Theratope[®]で 1 試験あったが、いずれにしても試験の症例登録時に患者の免疫状態を均一化することを目的に免疫反応を測定した試験は見られなかった。

3.4.4. 治療前の免疫反応と臨床アウトカムの評価における事例分析

治療前に存在する免疫反応と臨床アウトカムとの関連が分析された臨床試験は、再発転移性卵巣癌、乳癌、大腸癌患者を対象とした Theratope® の Phase II 試験のみであった。しかしながら、Phase II 試験で治療前に既存の免疫反応が臨床アウトカムと相関し、治療効果に影響することが示されていたにもかかわらず、その後 Theratope® で行われた Phase III 試験では、治療前の免疫学的指標に基づく患者選択あるいは層別化が行われていなかった。ちなみに、この Phase III 試験では有効性を証明できなかった。

Theratope®

Theratope® はいくつかの腫瘍で予後の悪化と関連する TAA として知られる、sialyl Tn (STn : シアリル Tn) を keyhole limpet hemocyanin (KLH : キーホールリッペットヘモシアニン) と結合させて生成される。再発転移性卵巣癌、乳癌、大腸癌を対象とした Phase II 試験では ELISA によって循環 STn 特異的抗体を定量化し、液性免疫を測定すると共に、末梢血中の CD69⁺ 及び CD4⁺CD69⁺ リンパ球をフローサイトメトリーによって定量化し治療前後の細胞性免疫を観察した。Reddish 等によると、Cox 比例ハザードモデルによる解析を行った結果、治療前に存在する末梢血 CD69⁺ リンパ球が少ない場合は、生存期間及び疾患増悪までの期間の延長と顕著に関連した (各 $P = 0.023, 0.0016$)⁶³⁾。同様に、治療前に存在する末梢血 CD4⁺CD69⁺ リンパ球が少ない場合は生存期間の延長と顕著に関連した ($P = 0.004$)。一方、治療前後の血清中 mucin 1 (MUC1 : ムチン 1) の増加が乳癌と卵巣癌の生存期間の短縮に関連していた (各 $P = 0.0153, 0.0105$)。

Theratope® は転移性乳癌患者で Phase III 試験を実施している。Miles らは患者が治療後に羊顎下腺ムチンに対して高力価の IgM 及び IgG 抗体を発現していたにもかかわらず、Theratope® は TTP、OS を延長しないことを報告した⁶⁴⁾。TTP 中央値は Theratope® 群及び KLH 群でそれぞれ 3.4 ヶ月及び 3.0 ヶ月であり (Cox 比例ハザードモデル、 $P = 0.353$; Log-rank 検定、 $P = 0.305$)、OS は 23.1 ヶ月及び 22.3 ヶ月であった (Cox 比例ハザードモデル、 $P = 0.916$)。

3.5. 考察

3.5.1. 癌治療ワクチンにおける腫瘍組織量評価の限界

本研究によって、癌治療ワクチンの多くの臨床試験で免疫反応と臨床アウトカムの相関が認められたにもかかわらず、ほとんどの Phase III 試験で有効性が証明されなかったことが分かった。

腫瘍ステージは癌患者の予後因子として定着しており、臨床試験の中で患者を選択したり結果を層別解析する際に活用されている。本研究では失敗した臨床試験の 69%が、腫瘍組織量を低減するために癌治療ワクチン治療前に手術あるいは化学療法の前治療を行っていたにもかかわらず、主要エンドポイントに達しなかったことが分かった。このように、腫瘍組織量の低減や腫瘍ステージによる対象患者の制限のみでは、癌治療ワクチンが有効な対象集団を特定するには不十分であることが明らかとなった。

3.5.2. 免疫環境に対する前治療や併用薬の影響

シクロホスファミドなどの化学療法や放射線療法は免疫抑制作用があることが知られていると共に、Treg 細胞を枯渇化し、抗原特異的 T 細胞の増殖を促すことが報告されている⁶⁵⁾。さらに、リツキシマブは B 細胞の枯渇化を促進することから、癌治療ワクチンを投与後も液性免疫反応が遅延することが示唆されている²⁵⁾。IL-2 は抗腫瘍反応を引き起こすことが知られている⁶⁶⁾。腎細胞癌を対象とした Oncophage[®] の Phase II 臨床試験では、Oncophage[®] 単剤で無効だった患者 2 例で IL-2 を併用すると病態が安定したとの報告があり、免疫調整剤の併用が Oncophage[®] の効果を高める可能性が示唆された⁶⁷⁾。このように、前治療や併用薬は患者の免疫環境の多様性をもたらす可能性があり、癌治療ワクチンの臨床試験結果に影響を与えることが考えられる。

3.5.3. 癌治療ワクチンにおける免疫環境評価の可能性

現在、学会を中心としたグループ（Society for Immunotherapy of Cancer, the European Academy of Tumor Immunology, the Cancer and Inflammation Program, the National Cancer Institute, National Institute of Health 及び La Fondazione Melanoma Onlus）で免疫状態を可視化することが検討されている⁵⁰⁾。そして、Mlecnik らが免疫スコアを提唱した大腸癌を対象とした研究では、Kaplan-Meier による生存解析の結果、免疫スコアが DFS、disease-specific survival (DSS : 原病生存期間)

及び OS に相関することが示された（各 HR = 0.64、0.60 及び 0.70; $P < 0.005$ ）⁶⁸⁾。また、AJCC/UICC-TNM 分類と免疫スコアを多変量解析（Cox 比例ハザードモデル）で分析した結果、免疫スコアのみが DFS、DSS、OS に有意に寄与することが示された（TNM 分類：各 HR = 1.38、1.43 及び 1.18 ; $P = 0.947$ 、0.1044 及び 0.2904）（免疫スコア：各 HR = 0.64、0.63 及び 0.71 ; $P < 0.001$ ）⁶⁸⁾。このことから、免疫スコアは癌種によっては腫瘍ステージよりも重要な予後因子となり得ることが分かった。

また、本研究によって、癌治療ワクチンの多くの試験で治療前の患者の免疫状態が予後因子であることが示されていた。ところが、これらの癌治療ワクチンの開発において、治療前の患者の免疫状態が臨床試験の評価で考慮されていないことが分かった。このことから、これらの臨床試験で既存の免疫状態によって患者を層別化していたら、違う結果が得られた可能性があることが示唆された。

癌治療ワクチンでは、腫瘍ステージと同様、免疫スコアによる患者選択または層別解析によって、治療に適した免疫状態の患者を特定することが重要と考えられる。癌治療ワクチン開発においては、**Phase I** で至適用量や用法を探索するために免疫反応が利用されることが多い。さらに、腫瘍ステージによって選択された患者集団で有効性が探索され、その後、免疫反応と臨床アウトカムとの相関が検証される。癌治療ワクチンの開発を成功させるには、このような癌治療ワクチンの一連の開発プロセスの中でも、用法用量設定や有効性の探索を目的とする開発早期の段階で治療に適した患者の免疫状態を特定し、対象患者を絞った上で有効性及び安全性を検証していくべきと考える。

3.6. 小括

本章では、個々の腫瘍組織量や免疫反応などの多様性を考慮せず患者を選択することが、癌治療ワクチンの Phase III が失敗する一因であるという仮説を証明することを目的に、終了した Phase III 23 試験のうち、有効性評価を目的として実施された 22 試験の臨床試験デザイン及び事例を調査分析した。

その結果、22 試験中 13 試験 (59%) で腫瘍ステージに基づいて患者が選択されていたのに対し、患者の免疫状態が考慮された試験はなかった。一方、免疫反応と臨床アウトカムとの相関を調査した 13 試験中 12 試験 (92%) で相関が認められ、関連を調査した 6 試験すべてで関連が示されていたことが分かり、免疫反応が予後因子または効果予測因子として証明されていた。また、免疫反応をもたらすための患者の免疫状態が予後因子または効果予測因子となる報告が多数あることが明らかとなった。

つまり、免疫状態が癌治療ワクチンの有効性評価に影響を与えることから、癌治療ワクチンの臨床試験では、腫瘍ステージに加え、免疫状態による患者選択または層別解析によって治療に適した免疫状態の患者を特定することが重要であることが示された。

第4章 癌治療ワクチンの開発を成功させるための

評価法としての免疫モニタリングに関する分析

4.1. 目的

癌治療ワクチンでは、生存を予測するサロゲートエンドポイントやバイオマーカーの探索が求められている。癌治療ワクチンの臨床試験では末梢血、delayed-type hypersensitivity (DTH: 遅延型過敏症) 反応、TIL、skin-test infiltrating lymphocyte (SKIL: 皮膚浸潤リンパ球)、腫瘍縮小効果、生存といった有効性評価項目が用いられる。本研究は、過去の臨床試験中の評価項目の傾向を調査し、免疫モニタリングに有望なパラメーターを導き出すことによって、癌治療ワクチンの評価法に対して洞察を与えることを目的に行った。

4.2. 背景（免疫モニタリング）

癌治療ワクチンの効果は免疫系の細胞間相互作用を介して発揮する。従って、臨床試験中、免疫反応を測定する免疫モニタリングの重要性が指摘されている¹⁾。癌治療ワクチンの臨床効果を予測するためには、末梢血リンパ球、遅延型過敏症、腫瘍浸潤リンパ球、皮膚浸潤リンパ球が評価の候補となり得る。

また、癌治療ワクチンは、T細胞の誘導または活性化によって一連の免疫反応を引き起こし、T細胞が腫瘍病変へ浸潤する結果、腫瘍の縮小をもたらすことから、癌治療ワクチン接種から臨床効果の発現までには時間を要することが知られている。そのため、免疫療法では、治療後に一度腫瘍が悪化したと判定されても、結果的に生存期間が延長する場合があることが知られている。この特徴を踏まえ、免疫治療の腫瘍縮小効果を適切に判定するために、新たに immune-related response criteria (irRC: 免疫学的評価基準) が提唱されている⁶⁹⁾。

本章では、これらの免疫モニタリングの測定法及び効果判定法を対象に分析を行った。

1) 末梢血リンパ球

末梢血を循環するリンパ球は生体内の免疫活性に関する情報をもたらす。エフェクターT 細胞の機能は様々な型のヘルパーT 細胞によって産生されるサイトカインによって調整される。例えば、Th1 細胞は IL-2 や IFN- γ を分泌し、Th2 細胞は IL-4、IL-5、IL-10 及び IL-13 を分泌する。IFN- γ は T 細胞反応を活性化させるポジティブフィードバックシグナルとして働き、活性化マクロファージによって媒介される腫瘍への攻撃をもたらすことが知られている。また、IL-2 は T 細胞の産生、増殖の活性化と共に、細胞傷害性のエフェクター機能に関与している。このことから、IFN- γ 及び IL-2 はしばしば細胞性免疫の評価の標的となる。

末梢血を用いた主な免疫測定法を表 15 に示した。抗原抗体反応を利用して血中の抗体やサイトカインなどを測定する ELISA、末梢血リンパ球の機能を測定する enzyme-linked immunospot (ELISPOT)、T 細胞増殖アッセイ、細胞内サイトカイン染色、そして末梢血リンパ球のフェノタイプを測定するフローサイトメトリー分析などがある。

表 15. 末梢血を用いた免疫測定法

測定名	方法
Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)	ELISA は抗原抗体反応と、標識した酵素の活性を活用して抗体やサイトカインなどを検出する免疫測定法である。血清中の抗体価やサイトカイン量を測定することによって液性及び細胞性免疫反応の強度を定量化することができる。
Enzyme-linked immunosorbent spot assay (ELISPOT アッセイ)	ELISPOT アッセイはサイトカイン産生細胞を抗サイトカイン抗体でコートしたプレートで培養し、分泌されるサイトカインを測定する方法である。細胞性免疫を調査するために、IFN- γ を標的とした ELISPOT アッセイがよく用いられる。高感度な方法の一つとして知られる ⁸⁴⁾ 。
T 細胞増殖アッセイ	T 細胞増殖アッセイは末梢血リンパ球を抗原含有培地で培養後、DNA 合成に必要な核酸である ³ H-チミジンの取り込み量を測定して生細胞を検出する方法、あるいは、クロム放出量を測定して細胞障害活性を検出する方法である。ただし、フェノタイプ分析や再現性に乏しく、非定量的であることから、得られる情報は限定的である ⁸⁴⁾ 。
細胞内サイトカイン染色	細胞内サイトカイン染色は試料からサイトカイン放出 T 細胞の濃度を検出できる。細胞を固定し、細胞膜透過処理することによって細胞内のサイトカインを抗サイトカイン抗体で染色して検出する。
フローサイトメトリー分析	リンパ球のフェノタイプの抗体を活用することによって、CD3、CD4、CD8 といったリンパ球のフェノタイプを分析することができる。

2) 遅延型過敏症 (DTH)

DTH はアレルギー分類の IV 型に属する反応である。異物である抗原に対して T 細胞が応答しマクロファージ等を活性化して炎症を引き起こす。癌治療ワクチンの評価でこの作用を活用することがあり、ホルマリン固定した自身の腫瘍細胞や抗原を皮内注射し、投与した腫瘍細胞や抗原に対する炎症反応を測定して、細胞性免疫反応を評価する。

3) 腫瘍浸潤リンパ球 (TIL)

腫瘍微小環境の中で、リンパ球は腫瘍へ浸潤して一連の免疫反応をもたらす。CD8⁺T 細胞は腫瘍病巣及び浸潤先進部へ浸潤することから、CD8⁺T 細胞が高濃度に検出されると、多くの癌種で予後が良いことが知られている⁴⁹⁾。例えば、Mahmoud らは乳癌で CD8⁺細胞数が生存の延長と有意に相関し、同時に独立した予後因子であることを示した⁷⁰⁾。また、Balermipas らは頭頸部癌において CD3⁺及び CD8⁺腫瘍浸潤リンパ球が OS、PFS、distant metastasis-free survival (DMSF : 無遠隔転移生存期間)を有意に改善することを示した⁷¹⁾。Mlecnik らは大腸癌において腫瘍病巣の CD8⁺及び CD45RO⁺細胞を複合的に分析することによって、再発や生存を予測することができることを報告している⁶⁸⁾。

一方、Treg 細胞の機能は二面性があることが示されている。多くの癌種では Treg 細胞のマーカーである FOXP3 の発現が免疫に対して抑制的に機能する指標となる結果、生存の短縮と関連することが知られている。一方、エストロゲン受容体陰性乳癌では FOXP3⁺腫瘍浸潤リンパ球が生存を有意に延長させることが報告されている⁷²⁾。このように TIL のバイオマーカーを調査する際には対象とする癌種及びリンパ球フェノタイプの役割を考慮しなければならない。

4) 皮膚浸潤リンパ球 (SKIL)

SKIL は、癌治療ワクチンを様々な部分に皮内投与して DTH 反応を誘導し、投与部位の皮膚検体を採取し分析される⁷³⁾。投与した癌抗原に対して、免疫反応を示すため投与部位に浸潤するリンパ球を評価する。

5) irRC

irRC は免疫療法の腫瘍に対する効果判定を行うために提唱されている。SPD (sum of the products) は、腫瘍病変の増減をいくつかの腫瘍径の合計から判定する際に用いられる。Wolchok らは、irRC において SPD (sum of the products of the two largest perpendicular diameters) をすべての標的病変の 2 つの最長径と定義し、腫瘍組織量を以下の式で表している⁶⁹⁾。

腫瘍組織量＝標的病変の SPD＋新規測定可能病変の SPD

そして、4 週間以上継続して全病変から腫瘍が完全に消失した場合を irCR (免疫学的完全寛解)、4 週間以上継続して 50% 以上腫瘍組織量が減少した場合を irPR (免疫学的部分寛解)、irCR や irPR の基準を満たさず irPD (免疫学的増悪) ではない場合を irSD (免疫学的安定)、4 週間以上継続して最も腫瘍組織量が少なかった時点より 25% 以上腫瘍組織量が増加した場合を irPD と定義している。irRC は抗 CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte antigen-4) 抗体である ipilimumab の臨床試験で活用された効果判定基準で、ipilimumab は 2011 年 3 月に FDA から承認されている。

一般に細胞傷害性薬剤では、腫瘍縮小効果を判定するために WHO 基準または Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST: 固形癌の治療効果判定のためのガイドライン) が利用される。WHO 基準は 1979 年に公表されたものであるが、その後、いくつかの研究グループが中心となり WHO 基準を改訂し、RECIST が策定された。測定可能病変のうち、1 臓器につき最大 5 か所、合計 10 病変までを標的病変として選択する。病態の進行は、「治療開始以降に記録された最小の最長径の和と比較して標的病変の最長径の和が 20% 以上」あるいは「既存の非標的病変の明らかな増悪」あるいは「新病変の出現」と定義される⁷⁴⁾。しかしながら、免疫療法では、WHO 基準や RECIST で腫瘍が悪化したと判定される患者であっても生存の延長が観察されることがあり、WHO 基準や RECIST は免疫療法の効果を十分反映するものではないことが指摘されてきた。WHO 基準は新病変の評価を必要としないため、変化する新病変の腫瘍組織量を加味する必要がない。従って、新病変が発現したら直ちに腫瘍増悪とみなされたり、腫瘍に浸潤したリンパ球が影響して腫瘍サイズが拡大した病変であっても、WHO 基準や RECIST では腫瘍悪化と判定される場合もある。一方、irRC は主病変のみならず評価可能な新病変を腫瘍組織量の総計として含めて判定するため、新病変の発現により直ちに腫瘍増悪と判定されることはない。また、連続した観察により判定するため、一時点の腫瘍サイズの増加で腫瘍増悪と判定されることもない。

4.3. 方法

2013 年 12 月 21 日時点で ClinicalTrials.gov に登録された癌治療ワクチンの臨床試験を調査した。一定の検索条件 (“Search Terms: Vaccine”, “Condition: Cancer”) でヒットした 1285 件中、さらに Outcome Measures を “overall survival”, “time to progression”, “progression free survival”, “disease free survival”, “recurrence free survival”, “irRC”, “response rate”, “tumor infiltrating”, “skin infiltrating”, “DTH”, “immune response” として検索し、それぞれを評価項目とする臨床試験の絞り込みを行った。また、Outcome Measure の検索条件を “response rate” として抽出された臨床試験から、“irRC”、“immune response”に関する “response rate” を除外し、WHO 基準または RECIST に基づく腫瘍縮小効果を評価した臨床試験を抽出した。尚、“Herpes Zoster”, “HIV”, “HPV vaccine”, “influenza vaccine” に関する臨床試験は除外した。

4.3.1. 有効性評価項目別の臨床試験の傾向分析

上述で抽出した、有効性評価項目別の癌治療ワクチンの臨床試験を開発フェーズや癌種によって分類することによって、癌治療ワクチン開発で利用されるエンドポイントの傾向を分析した。ただし、複数のエンドポイントを評価する臨床試験、あるいは複数の癌種を対象とする臨床試験では、臨床試験数はエンドポイント間あるいは癌種間で重複してカウントされることを前提とした。

4.3.2. 免疫モニタリング測定法に関する事例分析

免疫反応と臨床アウトカム的相关を評価した臨床試験を PubMed 及びその他の文献検索によって調査した。それぞれの臨床試験の特徴を総括するために、各臨床試験の対象癌種、開発フェーズ、免疫モニタリング測定法、臨床アウトカム評価法を特定し、相関分析で統計的有意差が評価された臨床試験の結果をまとめた。

4.4. 結果

4.4.1. 臨床試験中の有効性評価項目に関する現状分析

癌治療ワクチンの臨床試験において、末梢血、DTH 反応、SKIL、TIL、WHO 基準または RECIST に基づく腫瘍縮小効果、irRC に基づく腫瘍縮小効果、TTP、PFS、DFS、RFS 及び OS といったイベントまでの期間を測定した臨床試験は 553 試験あった。表 16 では、各エンドポイントが測定された癌治療ワクチンの臨床試験数を示した。

最も評価されていたパラメーターは末梢血（289/553、52%）であった。DTH 反応は 32 試験で評価されていた。SKIL と TIL が評価された臨床試験はそれぞれわずか 2 試験と 17 試験であった。腫瘍縮小効果は 126 試験で WHO 基準または RECIST に従って評価されていた一方、irRC が活用されていたのは 7 試験のみであった。

表 16. 評価項目別の癌治療ワクチン臨床試験件数

開発相	試験数	生物学的反応				腫瘍縮小効果		イベントまでの期間				
		末梢血	DTH	SKIL	TIL	WHO/RECIST	irRC	TTP	PFS	DFS	RFS	OS
Phase 0	5	3	0	0	3	1	0	0	2	0	0	0
Phase I	159	103	13	1	3	27	4	37	29	8	1	30
Phase I/II	100	57	5	0	2	21	1	21	30	8	4	34
Phase II	201	99	10	0	5	58	2	47	70	30	10	86
Phase II/III	7	2	0	0	0	2	0	2	1	1	0	4
Phase III	44	4	1	0	0	10	0	18	19	17	6	33
不明	37	21	3	1	4	7	0	2	3	4	1	8
合計	553	289	32	2	17	126	7	127	154	68	22	195

評価された臨床試験数が比較的少なかった、DTH 反応、SKIL、TIL、irRC に基づく腫瘍縮小効果測定に関して、図 11 で臨床試験件数の年次推移を示した。

TIL を評価した試験は 2002 年から 2007 年まで年にほぼ 1 試験あるのみであった。ただ、2009 年には 5 試験と、TIL を測定した臨床試験件数が突出していた。SKIL は 2008 年と 2009 年に 1 件ずつ測定されていたのみであった。

DTH 反応は件数が少ないものの、2005 年以前から実施されており、癌治療ワクチンの臨床試験の評価項目として 10 年以上の経験が蓄積されていた。2006 年、2007 年に一度増加傾向がみられたが、その後、減少していた。

irRC が癌治療ワクチンの臨床試験で活用され始めたのは 2011 年であった。irRC が初めて提唱されたのは ipilimumab の試験であったが、ipilimumab は抗 CTLA-4 抗体であり、特異的能動免疫を介した癌治療ワクチンではなく、免疫調整に属するものであることから、今回の調査の対象外とした。

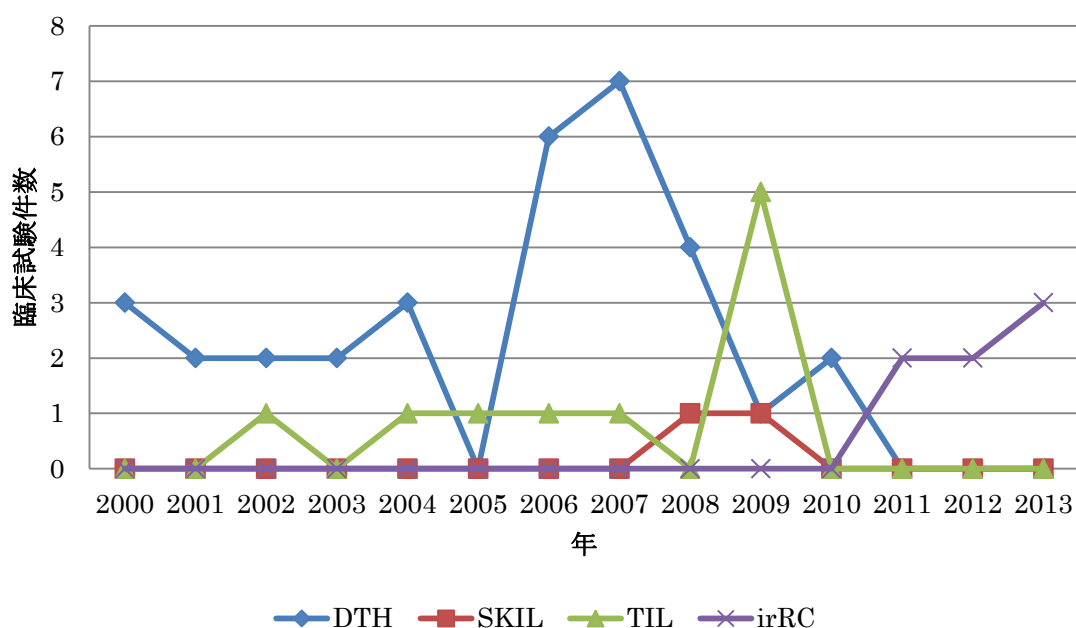


図 11. 少数評価項目が適用された癌治療ワクチン臨床試験件数の推移

4.4.2.各有効性評価項目が適用される開発フェーズに関する傾向分析

各開発フェーズで評価されるエンドポイントの傾向を表 16 から分析した。今回の調査対象は、Phase I が 159 試験、Phase I/II が 100 試験、Phase II が 201 試験あった。Phase I、Phase I/II、Phase II では末梢血が最も評価されていた (103/159、65% ; 57/100、57% ; 99/201、49%)。Phase III では OS が最も主流のエンドポイントであった (33/44、75%)。Phase I の約 20% が TTP、PFS、OS を評価しており、開発フェーズが進むと共にその割合も増加していた。DTH 反応はいずれの開発フェーズにおいても 10% 以下であった。

一方、各エンドポイントがどの開発フェーズで評価されるか調査したところ、末梢血測定の 91%、DTH 反応測定の 88%、WHO 基準または RECIST に従った腫瘍縮小効果測定の 85% が Phase II 以前の開発フェーズで実施されていた (図 12)。irRC に基づく腫瘍縮小効果の測定はすべて Phase II 以前であった。一方、TTP、PFS、DFS、OS といった臨床エンドポイントはそれぞれ 53%、58%、71%、73%、63% が Phase II 以降で評価されていた。SKIL 及び TIL はすべて Phase II 以前に評価されており、Phase III で評価された試験はなかった。

2006 年 4 月より厚労省によって適用された「抗悪性腫瘍薬の臨床評価法に関するガイドライン」⁷⁵⁾では、エンドポイントについて、Phase I で至適用量の検討の他、薬物動態や薬力学の検討、腫瘍縮小効果の観察が、Phase II で腫瘍縮小効果の観察が、Phase III で生存率又は生存期間等の検討が推奨されている。ここでいう腫瘍縮小効果は RECIST による効果判定を標準としている。従って、臨床アウトカムの評価件数が開発フェーズの進捗と共に増加する結果は、日本の抗悪性腫瘍薬ガイドラインと一致していた。また、抗悪性腫瘍薬ガイドラインでは、治療を予測するマーカーの探索を Phase I の目的に含めている。癌治療ワクチンにおいて行われる末梢血測定、DTH 反応測定、SKIL や TIL の測定は、治療効果を予測するためのマーカーの探索の一環であり、Phase II 以前の開発フェーズで評価されることが多いという結果は、Phase I での検討を推奨する抗悪性腫瘍薬ガイドラインとほぼ合致していた。

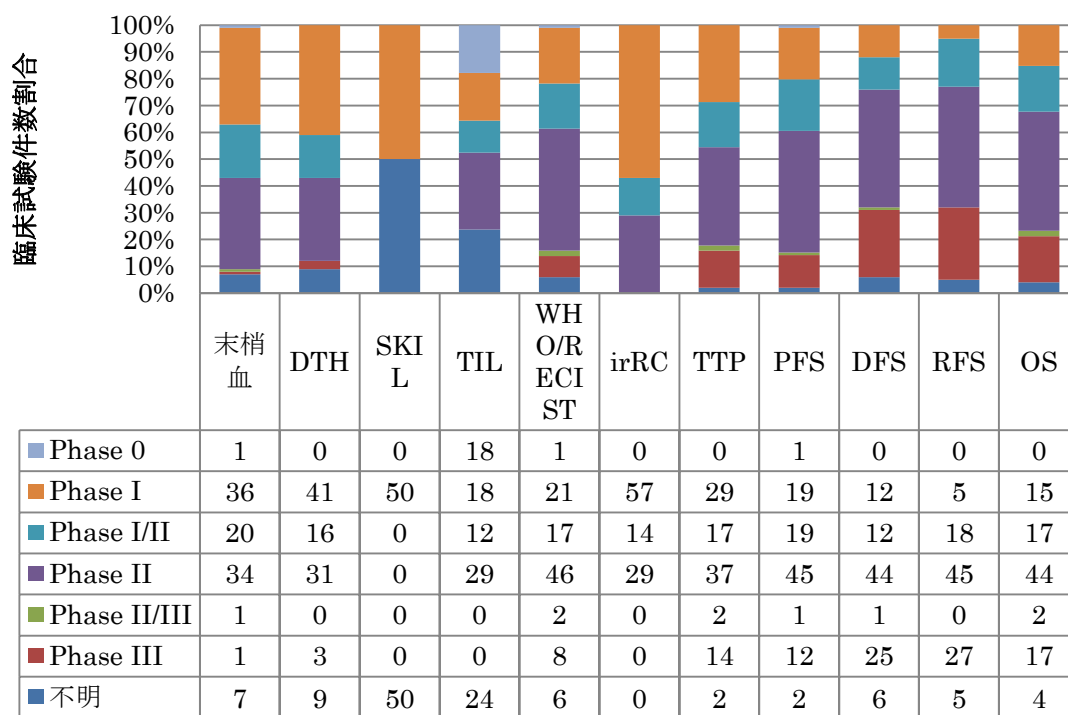


図 12. 評価項目別の癌治療ワクチン臨床試験の開発フェーズ

4.4.3. 臨床試験の対象癌種別の有効性評価項目に関する傾向分析

表 17 では、癌治療ワクチンの評価項目を臨床試験の対象癌種別にまとめた。553 試験の内、最も多い癌種はメラノーマで（101/553、18%）、次に血液がん（70/553、13%）、乳癌（53/553、10%）が続いた。すべての癌種で末梢血が最も頻繁に評価されていた。一方、SKIL を評価した 2 試験はすべて、DTH 反応では 28%（9/32）、TIL では 41%（7/17）がメラノーマを対象としており、いずれの評価項目もメラノーマで測定される事例が最も多かった。

一般に、原発巣の生検によって腫瘍の播種が懸念される場合があるが、日本癌治療学会と日本皮膚科学会の連携で作成された「皮膚悪性腫瘍ガイドライン」によると、メラノーマ原発巣の部分生検によって局所再発率や転移陽性率が上昇するという証拠はないので、全切除生検が不可能な場合には部分生検を行ってよいとしている⁷⁶⁾。ただし、こうしたガイドラインや治療領域内でのコンセンサスがあることが SKIL、TIL を実施することを円滑にしているかどうかは不明である。

対象癌腫にメラノーマが選択される試験が最も多いことから、SKIL、TIL の評価件数がメラノーマを対象とした試験で多いことは不思議ではない。つまり、癌種による評価項目の傾向は明確には示されなかった。

表 17. 対象癌種別の癌治療ワクチン臨床試験評価項目

癌種	試験数	末梢血	DTH	SKIL	TIL
メラノーマ	101	55	9	2	7
血液がん	70	44	6	0	2
乳癌	53	42	2	0	0
肺癌	48	22	1	0	0
前立腺癌	41	27	2	0	1
グリオーマ	34	14	1	0	1
膀胱癌	33	14	3	0	1
卵巣癌	30	14	1	0	0
大腸癌	25	18	0	0	1
食道癌	8	3	3	0	0
計		289	32	2	17

4.4.4. 相関分析における免疫モニタリング測定法に関する傾向分析

表 18 に示したように、癌治療ワクチンの臨床試験で免疫反応と臨床アウトカムの相関を調査した試験は 21 試験あった。19 試験 (19/21、90%) は末梢血の免疫反応とイベントまでの期間として測定される臨床アウトカムの相関を評価していた。図 13 でまとめられるように、末梢血の免疫反応の測定法は、ELISA、T 細胞増殖アッセイ、ELISPOT アッセイ、免疫抑制アッセイ、細胞内サイトカイン染色、フローサイトメトリーがあり、それぞれ 13 試験、5 試験、5 試験、1 試験、1 試験、1 試験で利用されていた。DTH 反応と臨床アウトカムとの相関は 6 試験 (6/21 ; 29%) で評価されていた。SKIL と OS の相関は 1 試験 (1/21 ; 5%) で評価されていた。しかしながら、TIL と臨床アウトカムとの相関を評価した試験はなかった。

複数の免疫測定法を組み合わせる相関を評価した試験は 11 試験あった。その内 6 試験は、2 種類の免疫測定結果と臨床アウトカムの相関をそれぞれ免疫測定法ごとに評価していた。同様に、3 種類の免疫測定法ごとに相関を評価した試験は 2 試験あった。一方、2 種類の評価法の内いずれか 1 種で反応が示されたら免疫反応が陽性とみなして相関を評価した試験は 3 試験あった。その内 1 試験はステージ IV メラノーマを対象とした onmelatucel-L (Canvaxin®) の Phase II 試験で、ELISA と DTH 反応の測定結果を組み合わせ生存との相関を調査していた。その他、前立腺癌を対象とした sipuleucel-T (Provenge®) の臨床試験では ELISA と T 細胞増殖アッセイの測定結果を、非ホジキンリンパ腫を対象とした Specifid™ の臨床試験では ELISA と細胞内サイトカイン染色の測定結果を複合的に評価していた。

薬剤別では、計 13 製品中、複数の臨床試験を行った製品は 6 製品あった。その内、Provenge®、PSA-TRICOM、HER2/neu ペプチドワクチンの 3 製品は、同一製品内の試験間で用いる免疫測定法が異なっていた。Provenge®は Phase I/II 試験で ELISA または T 細胞増殖アッセイのいずれかの反応例を、Phases III では ELISA と T 細胞増殖アッセイの各測定結果を別々に評価し、さらに別の試験では ELISA、T 細胞増殖アッセイの他、ELISPOT の各測定結果を評価していた。PSA-TRICOM は Phase II で ELISA、ELISPOT、フローサイトメトリーの各測定結果を、Phase II では免疫抑制アッセイの測定結果を評価していた。HER2/neu ペプチドワクチンは一つの Phase I/II で ELISPOT を、別の Phase I/II ではダイマーアッセイと DTH の測定結果を評価していた。

液性免疫反応を測定するためには ELISA が標準的に用いられていた一方、細胞性免疫反応の測定は同一製品内、製品間で必ずしも統一されているわけではないことが明らかとなった。

表 18. 癌治療ワクチンの免疫反応と臨床アウトカムの相関分析

薬剤名	癌種	開発相	免疫反応	臨床ア ウトカ ム	評価結果	有 参 意 照 差
Sipuleucel-T (Provenge®)	前立腺癌	P I/II	末梢血 (ELISA または T 細胞 増殖アッセイ)	TTP	T 細胞または B 細胞の抗 PAP 免疫反 応例 vs. 無反応例の TTP は 34 vs. 13 週間(P<0.027)	Y 57)
		P III (IMPACT)	末梢血 (ELISA)	OS	抗 PA2024 または抗 PAP 高抗体価例 は生存延長 (P<0.001 及び P=0.08).	Y 17)
			末梢血(T 細胞 増殖アッセイ)	OS	Provenge 群で免疫反応例と無反応例 の生存の差はなし	N 17)
		P III (IMPACT 及び D9901/D99 02A)	末梢血 (ELISA)	OS	OS とベースライン後の抗 PA 2024 免 疫反応は相関(HR = 0.42, P<0.001).	Y 77)
			末梢血 (ELISPOT)	OS	OS と IFN- γ ELISPOT 反応は相関 (HR = 0.55, P = 0.08).	N 77)
			末梢血(T 細胞 増殖アッセイ)	OS	T 細胞増殖反応は OS と統計的な相 関なし	N 77)
Onmelatuce l-L (Canvaxin®)	メラノー マ (Stage IV)	P II	末梢血, DTH (ELISA または DTH)	OS	抗 TA90 高抗体価かつ DTH 高反応例 vs.いずれか一つ反応例 vs.無反応例 の 5 年生存率は 75% vs. 36% vs. 8% (P<0.001)	Y 58)
		P II	末梢血 (ELISA)	OS, DFS	抗 TA90 高抗体価 vs.低抗体価の 5 年 生存率は 94% vs. 52% (P = 0.001)、5 年 DFS は 89% vs. 17% (P = 0.0001)	Y 58)
			DTH	OS, DFS	DTH 反応例 vs.無反応例の 5 年生存率 は 75% vs. 60% (P = 0.4607)、5 年 DFS は 54% vs. 20% (P = 0.1734)	N 58)
		P II 後	末梢血(ELISA)	OS	高抗体価 vs.低抗体価の 5 年生存率は 26.8% vs. 9.6% (P = 0.0117)	Y 59)
		IIIa and IV)	DTH	OS	DTH 反応例 vs.無反応例の 5 年生存率 は 27.7% vs. 10% (P = 0.0066)	Y 59)
Specifid™	非 ホ ジ キ ン リ ン パ 腫	P II	末梢血 (ELISA または 細胞内サイト カイン染色)	EFS	免疫反応と EFS の相関はなかった	N 42)

Mitumomab (BEC2)	小細胞肺癌	P III	末梢血 (ELISA)	OS	抗 GD3 高抗体価 vs. 低抗体価の生存 期間は 19.2 vs. 13.9 ヶ月 (P = 0.0851).	N	27)
Gastrimmune (Insegia™)	膵癌	P II	末梢血 (ELISA)	OS	抗体反応例 vs. 無反応例の生存期間 は 217 vs. 121 日 (P = 0.0023)	Y	60)
		P III (単剤)	末梢血(ELISA)	OS	抗体反応例 vs. 無反応例 vs. プラセボ の生存期間は 176 vs. 63 vs. 83 日 (P = 0.003)	Y	61)
STn-KLH (Theratope®)	乳癌、卵巣 癌、大腸癌	P II	末梢血 (ELISA)	OS	抗 STn 高抗体価と生存は相関(乳癌、 卵巣癌、大腸癌; P = 0.032, 0.041, 0.0025).	Y	63)
DNP 修飾自 家癌ワクチ ン (M-Vax™)	メラノーマ (Stage III)	P III 前	DTH	OS	DTH 反応例 vs. 無反応例の 5 年生存率 は 71% vs. 49% (P = 0.031)	Y	5)
		P III	DTH	OS	DTH 反応例 vs. 無反応例の再発後生 存率は 25.2% vs. 12.3% (P < 0.001)	Y	12)
Id-KLH (MyVax®)	非ホジキン リンパ腫	P III 前	末梢血 (ELISA)	PFS	液性免疫反応例 vs. 無反応例の PFS は 8.21 vs. 3.38 年 (P = 0.018).	Y	46)
			末梢血(T 細胞 増殖アッセイ)	PFS	免疫反応例 vs. 無反応例の PFS は 2.47 vs. 4.92 年 (P = 0.312)	N	46)
GVAX	膵癌	P II	末梢血 (ELISPOT)	DFS	メソテリン特異的 T 細胞レパトリ ーの有無が DFS と相関 (P = 0.0002)	Y	78)
IMA901	腎細胞癌	P II	末梢血 (ELISPOT)	OS	腫瘍関連ペプチドへの反応例の生存 延長 (P = 0.023)	Y	79)
PSA-TRICO M (PROSTVAC -VF)	前立腺癌	P II	末梢血 (ELISA)	OS	18 か月以上の生存例と 18 か月未満 の生存例に抗体価の差はなし	N	80)
			末梢血 (ELISPOT)	OS	PSA 高反応例 (6 倍超) vs. PSA 低 反応例 (6 倍未満) と生存に統計的 な差はなし (P = 0.055)	N	80)
			末梢血 (フローサイト メトリー)	OS	Treg (CD4+/CD25+/FoxP3+) のベース ライン値と生存期間に差はなし (P > 0.8).	N	80)
		P II	末梢血 (免疫 抑制アッセイ)	OS	治療前後の Treg の抑制活性と生存期 間は相関 (P = 0.029).	Y	81)
HER2/neu ペプチドワ クチン	乳癌	P I/II	末梢血 (ELISPOT)	OS	T 細胞高反応例 (中央値以上) は低 反応例 (中央値以下) よりも生存期 間が延長; 抗 HER2/neu ペプチド及 び関連タンパク (P = 0.08), 抗分子内	N	82)

					エピトープ関連ペプチド (P = 0.09).	
	P I/II	末梢血 (ダイマーアッセイ)	Reurrence	再発例と無再発例では免疫反応に統計的な差はなし	N	83)
			DTH	再発例と無再発例では DTH 反応に統計的な差はなし (P = 0.7).	N	83)
gp100 腫瘍抗原及びチロシナーゼを含む DC ワクチン	メラノーマ	事後研究	末梢血 (T細胞増殖アッセイ)	OS 強い KLH 特異的 CD4+ T 細胞反応の有無で生存期間は 6.9 vs. 9.0 ヶ月 (P = 0.95)	N	73)
			SKILs	OS SKIL 中腫瘍特異的抗原に対する CD8+T 細胞の有無で生存期間は 14.1 vs. 10.9 ヶ月 (HR = 0.60, P = 0.005) SKIL 中ワクチン特異的なペプチド認識の有無で生存期間は 14.2 vs. 10.2 ヶ月 (HR = 0.42, P = 0.005) 自然処理抗原に反応する SKIL の有無で生存期間は 24.1 vs. 9.9 ヶ月 (HR = 0.30, P = 0.002)	Y	73)

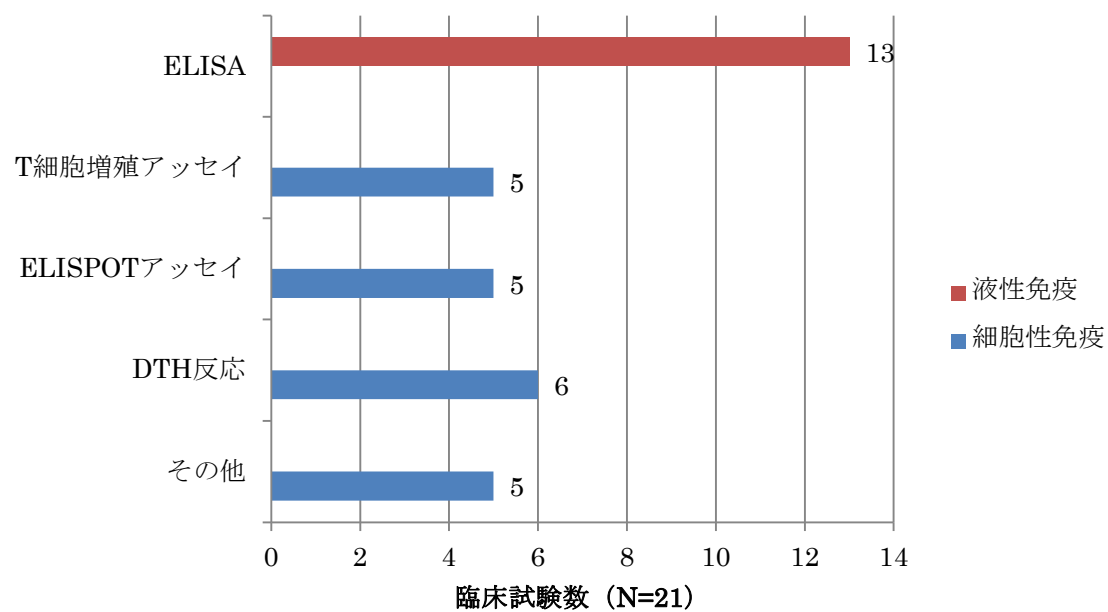


図 13. 癌治療ワクチン臨床試験の相関分析における免疫測定法

4.4.5. 免疫モニタリング測定法別の相関分析結果に関する傾向分析

表 18 によって、免疫反応と臨床アウトカムの相関分析を行った 21 試験中 16 試験 (76%) でいずれかの免疫反応測定法で相関が示されていた。

ELISA は末梢血の液性免疫反応を評価した 13 試験すべてで用いられていた (図 13)。ELISA を用いた 13 試験中 10 試験 (77%) でアッセイ結果が臨床アウトカムと相関していた。

T 細胞増殖アッセイは最もよく用いられている免疫反応測定法の一つであったが、T 細胞増殖アッセイを用いた 5 試験中 4 試験 (80%) でアッセイ結果と臨床アウトカムの相関が示されなかった。5 試験中相関が見られた 1 試験は、前立腺癌を対象とした sipuleucel-T (Provenge®) の Phase I/II 試験で、ELISA または T 細胞増殖アッセイのいずれか一方で陽性反応があれば反応例とみなした結果、反応例は無反応例に対して有意に TTP が延長していた (34 週 vs. 13 週; $P < 0.027$)⁵⁷⁾。

ELISPOT アッセイもまた、免疫反応のためによく利用される測定法の一つであったが、ELISPOT アッセイを行った 5 試験中 3 試験 (60%) で臨床アウトカムとの相関が示されなかった。その他の免疫反応測定法である、細胞内サイトカイン染色については、非ホジキンリンパ腫を対象とした Specifid™ の Phase II 試験で利用されていたが、EFS との相関は認められなかった⁴²⁾。フローサイトメトリー分析は前立腺癌を対象とした PSA-TRICOM の Phase II 試験で利用され、Treg ($CD4^+/CD25^+/FOXP3^+$) のベースライン値からの変化が評価されたが、OS との相関は示されなかった ($P > 0.8$)⁸⁰⁾。別の前立腺癌を対象とした PSA-TRICOM の Phase II 試験は、 $CD4^+CD25^-$ T 細胞の増殖を測定する免疫抑制アッセイを用いて $CD4^+CD25^{high}FOXP3^+$ Treg の機能と OS の相関を分析していた。その結果、Treg の機能の低下は生存期間の延長と相関することが示されていた ($P = 0.029$)⁸¹⁾。

免疫反応と臨床アウトカムの相関を評価するにあたり、21 試験中 8 試験 (38%) は同一試験内で 2 種類または 3 種類の免疫反応測定法を用いていた。その相関分析結果を図 14 に示した。8 試験の内 5 試験 (63%) は免疫反応測定法によって相関分析の結果が異なっていた。異なる結果は、ELISA (相関あり) と T 細胞増殖アッセイ (相関なし) を用いた 2 試験、ELISA (相関あり) と ELISPOT アッセイ (相関なし) と T 細胞増殖アッセイ (相関なし) を用いた 1 試験、ELISA (相関あり) と DTH 反応 (相関なし) を用いた 1 試験、T 細胞増殖アッセイ (相関なし) と SKIL (相関あり) を用いた 1 試験で認められた。8 試験中 1 試験 (13%) のみ 2 種類の免疫反応測定法が両方とも臨床アウトカムと相関していた。その 1 試験はステージ III/IV メラノーマを対象とした onmelatucel-L (Canvaxin®) の臨床試験で、ELISA と DTH 反応で免疫反応が測定され、両測定結果共に OS と

の相関が認められていた（ELISA：5年生存率、抗体価高値 vs. 低値で 26.8% vs. 9.6%； $P = 0.0117$ 、DTH 反応：5年生存率、反応例 vs. 無反応例で 27.7% vs. 10%； $P = 0.0066$ ）⁵⁹⁾。

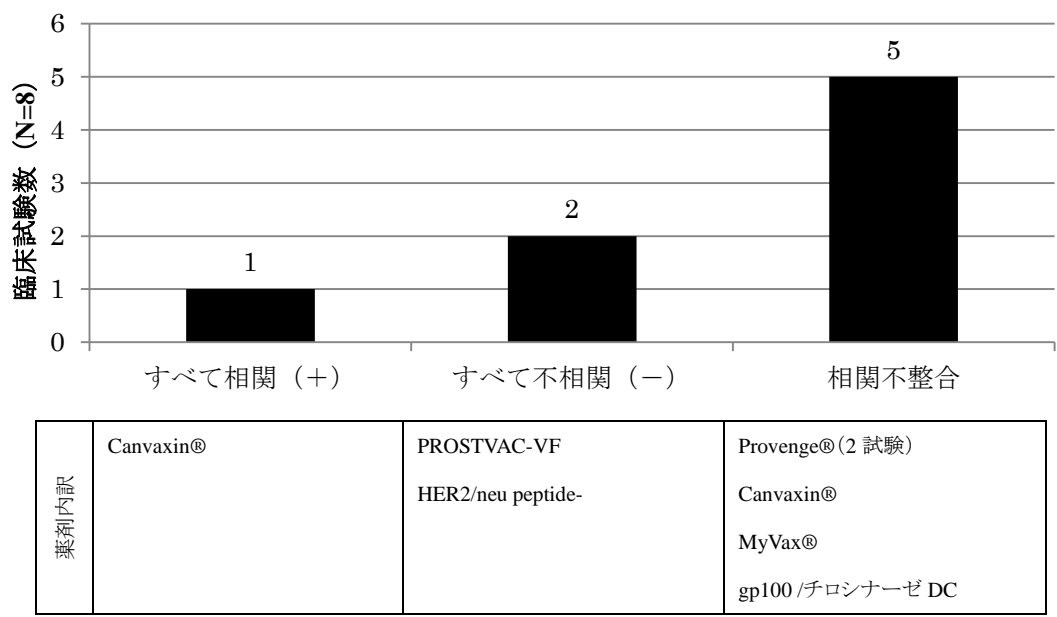


図 14. 癌治療ワクチン臨床試験の複数免疫測定法による相関分析結果

4.4.6. 治療前のバイオマーカー評価に関する事例分析

21 試験中 2 試験 (10%) でフローサイトメトリー分析を用いて治療前のバイオマーカーを評価していた。乳癌、卵巣癌、大腸癌を対象とした STn-KLH (Theratope®) の Phase II 試験では、抗 STn IgG 抗体価によって示される液性免疫反応と生存との相関を評価すると共に、CD69⁺と CD4⁺CD69⁺末梢血リンパ球を検出するフローサイトメトリー分析と臨床アウトカムとの相関を評価していた。その結果、治療前に CD69⁺末梢血リンパ球数が少ないと生存期間が延長すること、及び治療後の病態悪化が遅延することが Cox 比例ハザードモデルで統計的に示された (それぞれ $P = 0.023$ 、 $P = 0.0016$)⁶³⁾。また、CD4⁺CD69⁺末梢血リンパ球が治療後に少ないと生存の延長が認められた ($P = 0.004$)。

腎細胞癌を対象とした IMA901 の Phase II 試験では治療後の腫瘍関連ペプチドに対する免疫反応と OS の間に相関があることが示され ($P = 0.023$)、治療前の MDSC のフェノタイプが生存期間の短縮に関連することが示された (MDSC4 : $P < 0.001$ 、MDSC5 : $P = 0.016$)⁷⁹⁾。

4.5. 考察

4.5.1. 免疫モニタリング測定法のばらつき

医薬品開発の中で、バイオマーカーは **proof-of-concept (POC : 概念の実証)**を確認する際に重要な役割を果たす。従来の抗癌剤は、腫瘍の遺伝子変異や遺伝子増幅がバイオマーカーのターゲットとして扱われる事が多い。しかしながら、癌治療ワクチンの作用機序は免疫反応、つまりは腫瘍抗原によって引き起こされる免疫細胞の細胞間相互作用に基づくものである。特に細胞性免疫では、腫瘍細胞と T 細胞の相互作用が癌治療ワクチンの効果発現に重要な役割を果たす。

しかしながら、本研究において、細胞性免疫を評価する測定法は臨床試験間で十分に標準化されておらず、未だ多様な測定法が用いられていることが示された。さらに、今回の調査対象の中で、T 細胞増殖アッセイのみを利用した臨床試験の内、測定結果と臨床アウトカムとの相関が示された試験は存在しなかった。また、T 細胞増殖アッセイを含む複数の測定法を用いた臨床試験の多くで、測定法によって臨床アウトカムとの相関分析の結果が異なっていた。例えば、液性免疫反応を測定するために **ELISA**、細胞性免疫反応を測定するために T 細胞増殖アッセイを用いていた臨床試験が 3 試験あったが、いずれも、**ELISA** では相関が示されたが、T 細胞増殖アッセイでは相関が示されていなかった。**Society of Biological Therapy** (生物学的療法学会) 主催のワークショップに基づき、**Keilholz** らによって T 細胞増殖アッセイが分析の前に **in vitro** での培養ステップを要し、操作する人に依存する部分が多いことが報告された⁸⁴⁾。我々の調査により測定法間で分析結果が一貫しないことが明らかとなったが、彼らの結論はその原因が測定法自体の信憑性にあることを示唆するものと考えられる。

また、**ELISPOT** アッセイで測定した 5 試験中 3 試験で臨床アウトカムとの相関が認められていなかったが、本研究によると **ELISPOT** アッセイは T 細胞免疫反応を評価するために最もよく利用されている方法であった。一方、**ELISPOT** アッセイで測定に利用される標的細胞は末梢血を循環している **IFN- γ** 産生細胞であり、腫瘍部位の抗原特異的 T 細胞の実際の数を反映させるものではないことを考慮すべきである。

このように、免疫モニタリングの方法は最適化されなければならない、測定法の信頼性や再現性などの特徴を考慮して選択しなければならない。臨床試験で用いる細胞性免疫反応の測定法の標準化に加えて、測定技術を統一することも必要であろう。**Streitz** らによると、**ONE** 試験コンソーシアムによって血液細胞のフェノタイプや機能を全血中からプロファイリングする際に用いられる、フローサイトメトリーの標準アッセイ法が開発された⁸⁵⁾。こうしたコンソーシア

ムによる提言は技術のばらつきを抑える措置として免疫反応測定法においても有用であろう。

4.5.2. 新たな免疫モニタリング測定法の可能性

また、T細胞のフェノタイプが腫瘍の進行に影響することが多く報告されている。Fridmanらは腫瘍に浸潤する高濃度のCD3⁺、CD8⁺、CD45RO⁺T細胞が生存の延長に関連することを示した⁴⁹⁾。また、Balermipasらは頭頸部癌でCD3⁺及びCD8⁺腫瘍浸潤リンパ球が生存の延長に関連することを示した⁷¹⁾。ただし、癌種によってリンパ球フェノタイプの働きが異なる可能性があることが示唆されている。例えば、末梢血中または腫瘍病変のTreg細胞で免疫反応を抑制する働きが知られている一方、卵巣癌、頭頸部癌、大腸癌、乳癌^{49), 72)}といった癌種でTreg細胞の浸潤が良好な予後と関連することが報告されている。これらの結果を基に、フェノタイプを適切に選定することができれば、T細胞フェノタイプは臨床効果を予測するパラメーターとして活用することが可能であろう。

例えば、CD69⁺CD4⁺CD25⁻T細胞はTreg細胞のサブセットとして報告されている⁸⁶⁾。STn-KLH (Theratope®) のPhase II試験ではフローサイトメトリー分析が利用され、免疫治療前のCD69⁺またはCD4⁺CD69⁺末梢血リンパ球と臨床アウトカムの相関が評価されていた。その結果、CD69⁺及びCD4⁺CD69⁺末梢血リンパ球が治療前に低値であると、生存期間が延長することが示されていた(P=0.023及び0.004)⁶³⁾。また、IMA901のPhase II試験では治療前のMDSCのフェノタイプが生存期間に関連することが示されていた(MDSC4 : P<0.001、MDSC5 : P=0.016)⁷⁹⁾。

ただし、TILは生検を要するため、患者への負担及び腫瘍細胞の播種が懸念される場合があり、実臨床では頻繁に評価できないという欠点がある。一方で、末梢血リンパ球は腫瘍微小環境を正確に表すものではなく、測定評価に限界があることが示唆されている⁸⁷⁾。実際に、Donskovらによると、腎細胞癌患者を対象としたIL-2の臨床試験で実施されたリンパ球フェノタイプ分析によると、末梢血リンパ球とTILとでは異なる分析結果が得られていた。つまり、末梢血中リンパ球の分析ではフェノタイプと腫瘍縮小効果の相関が認められたが、フェノタイプと生存の相関は認められなかった。一方、TILの分析ではフェノタイプと腫瘍縮小効果、フェノタイプと生存共に相関が認められていた⁸⁸⁾。

Aarntzenらは大規模試験に利用する免疫モニタリングの候補として、SKILの有用性を提唱している⁷³⁾。今回の調査の結果、SKILと臨床アウトカムの相関を調査した試験は1試験のみであった。樹状細胞にgp100腫瘍関連抗原とチロシナーゼを取り込んだ癌治療ワクチンで、メラノーマを対象にT細胞増殖アッセ

イと SKIL を用いて免疫反応を評価していたが、T 細胞増殖アッセイ結果で臨床アウトカムとの相関が見られなかった一方、SKIL の評価結果では相関が認められていた⁷³⁾。

Tjin らは、メラノーマを対象に TIL、SKIL、末梢血リンパ球の免疫機能を比較し、抗原特異的 CD8⁺T 細胞が正常皮膚や末梢血サンプルよりも腫瘍組織に高頻度認められることを報告している⁸⁷⁾。また、末梢血リンパ球では抗原刺激の後にサイトカイン産生が認められなかった一方、TIL では認められたことを示している。我々の調査では、TIL が 17 試験でしか評価されていなかったのに対し、末梢血は最も評価されているサンプルであった (289/553、52%)。中には、末梢血リンパ球の IFN- γ や IL-2 といったサイトカインを ELISPOT アッセイや細胞内サイトカイン染色で検出することで免疫反応を評価した臨床試験もあった。従って、TIL の方が末梢血リンパ球より免疫活性を適切に表すとすると、いくつかの臨床試験では癌治療ワクチン開発を進めるに当たり信頼できる正確な科学的根拠を示す機会を失っているかもしれないことが示唆された。

腫瘍内の免疫細胞の濃度の程度をスコア化したものとして、Galon らが提唱した免疫スコアがある⁵⁰⁾。これは、2 種類のリンパ球集団 (CD8/CD45RO) の濃度、腫瘍の拡散程度、再発頻度を用いて定義されたスコアである。この免疫スコアは、大腸癌の再発や生存を予測する際に有用であることが、Mlecnik らによって明らかにされている⁶⁸⁾。このように、リンパ球のフェノタイプ分析は免疫反応の評価の一つとして重要であろう。

4.5.3. 癌治療ワクチンに適した免疫効果判定法の必要性

癌治療ワクチンを含む免疫療法の特徴の一つに、臨床アウトカム実証までの反応パターンの違いが挙げられる。従来の抗癌剤の臨床試験では、病態が悪化する場合治療を中断する。しかしながら、病態が悪化したとしても、癌治療ワクチンを含む免疫療法ではその後効果が表れる患者もいる。そこで、WHO 基準や RECIST に代わるものとして、2009 年に免疫療法のための効果判定基準である irRC が提唱された。Wolchok らは irRC を定義し WHO 基準と irRC の評価結果の比較を行った⁶⁹⁾。著者らは比較可能な生存データを用いて 2 種類の基準で判定した結果、WHO 基準で progression of disease (PD: 腫瘍増悪) と判定された患者の内、irRC はその後良好な生存を示した 10% の患者を追加で特定できることを示した。我々の調査によると、irRC は 2011 年から利用された比較的新しい基準であり、7 試験でしか使われていなかった。WHO 基準や RECIST から irRC への移行は癌治療ワクチンでは十分に行われていないが、従来の WHO 基準や RECIST を用いた臨床試験では、腫瘍進行後に臨床効果を示した患者のデータが

見落とされる可能性が考えられる。

癌治療ワクチンのように遅延性の効果が想定される場合、統計解析において検出力が低くなることが示されている⁹⁸⁾。irRCなどの免疫効果判定基準を取り入れる他、日本バイオセラピー学会によって作成された「がん治療用ペプチドワクチンガイドランス」で指摘されているように、観察期間の後期に重み付けするHarrington-Fleming法などの新しい統計学的手法を取り入れることを検討すべきであろう⁶⁾。

4.5.4. 癌治療ワクチンの免疫反応測定における考慮点

癌治療ワクチン開発では、成果が発現する反応段階や開発フェーズによって評価項目を設定することが好ましいと考える。特に、T細胞を介して効果を発揮する癌治療ワクチンでは生存の延長という真のエンドポイントまで効果が表れるには時間を要する。従って、癌治療ワクチンではそれまでの期間、効果をモニタリングし生存への影響を評価するためにバイオマーカーを設定することが役立つ。末梢血の液性免疫反応は製品の腫瘍抗原への免疫原性を反映するものであり、生存と正の相関があっても、末梢血の細胞性免疫反応は腫瘍細胞と免疫細胞の間の実際の反応を十分に示すとは限らない。この意味では、臨床アウトカムに対する効果を予測するためには、腫瘍細胞と免疫細胞の相互作用を推察することができる細胞性免疫反応を示す別の指標が重要かもしれない。腫瘍微小環境においてT細胞が癌種やT細胞フェノタイプによって異なる働きがあることを考慮すると、T細胞フェノタイプの分析も重要な考慮点といえる。加えて、臨床試験で用いる効果判定基準は腫瘍縮小効果とともにイベントまでの期間や生存期間の評価に影響を与えることから、免疫治療に適したものでなくてはならない。

結果として、癌治療ワクチンの開発の間に次の評価を検討すべきと考える。つまり、開発初期の段階では開発の科学的根拠を示すために治療に関連する免疫反応を調査し、POCとして臨床効果を予測するために癌治療ワクチンが腫瘍微小環境中または末梢血中のT細胞フェノタイプへ与える影響を分析し、臨床アウトカムに対する治療効果を信頼できる効果判定基準によって評価すべきである。

4.6. 小括

本章では、臨床試験で用いられる免疫反応測定法が、癌治療ワクチンの Phase III が失敗する一因であるという仮説を設定し、2013 年 12 月 21 日以前に実施された臨床試験の評価パラメーターの利用状況を調査分析した。その結果、末梢血免疫反応、DTH 反応、SKIL、TIL、腫瘍縮小効果、イベントまでの期間を測定した臨床試験は 553 試験あった。末梢血免疫反応やイベントまでの期間は多くの試験で実施されていたが、SKIL、TIL を測定した試験はそれぞれ 2 試験と 17 試験で少数であった。また、免疫療法の治療効果判定基準として irRC が提唱されているが、実際に活用しているのは 7 試験のみで、癌治療ワクチンの臨床試験ではまだ浸透しているとはいえなかった。

免疫反応を治療の効果予測に利用するためには、真のエンドポイントである生存との相関が示されなくてはならない。そこで、免疫反応との相関分析を行った臨床試験を事例調査により 21 試験特定し、相関分析結果を元に、免疫測定に関する改善点を考察した。液性免疫反応を測定した試験は 13 試験あったが、すべての試験で ELISA が用いられていた。一方、細胞性免疫反応は T 細胞増殖アッセイ (5 試験)、ELISPOT アッセイ (5 試験)、フローサイトメトリー分析 (1 試験) など様々な測定法が存在し、統一されていなかった。また、同一試験内で複数測定法を用いて相関分析を行った事例 (8 試験) によると、同一試験内でも測定法によって相関分析結果が異なる事例が 5 試験あり、すべて相関した事例はわずか 1 試験のみであった。このことから、各測定法の信頼性や再現性などの特徴を踏まえ、癌治療ワクチンの細胞性免疫測定法を選択し、各測定法を技術的に統一する必要があることが明らかとなった。さらに、リンパ球の機能分析のみでなく、リンパ球のフェノタイプ分析による治療効果予測が有益である可能性が示された。また、メラノーマなどの生検が可能な癌種では SKIL や TIL からフェノタイプを分析することによって、腫瘍とリンパ球の細胞間相互作用が生じる腫瘍微小環境を評価する余地があると考ええる。

第5章 癌治療ワクチンの開発を成功させるための提言

5.1. 本研究の成果

5.1.1. 癌治療ワクチン開発の評価法に対する改善策

癌治療ワクチンが細胞性免疫を含む細胞間相互作用によって効果を発揮することから体内動態が複雑で、腫瘍組織量と生存の変化の発現タイミングが従来の抗癌剤よりも遅いことが推測される。よって、癌治療ワクチンの開発においては、従来の抗癌剤の方法論では限界があることが指摘されている^{89), 90)}。本研究の結果、癌治療ワクチンの臨床試験において、1) 対象患者、2) 免疫モニタリング、3) 効果判定、4) 免疫効果支持療法、の検討が十分でない実態が明らかとなった。癌治療ワクチンの臨床試験では、これらに対して新しい概念を取り入れる余地があると考ええる。

1) 対象患者

従来の抗癌剤では、臨床試験へ組み入れる対象患者は AJCC/UICC TNM 分類などの腫瘍ステージに基づいて選択されるのが一般的であるが、本研究で、癌治療ワクチンの臨床試験においても、従来の対象患者の選択方法を採用していることが多いことが明らかとなった。しかしながら、本研究において多くの試験（13 試験中 11 試験）が腫瘍ステージによって対象患者を選択したにもかかわらず有効性が証明できず失敗しており、手術、化学療法、放射線化学療法といった、腫瘍組織量を低減させる前治療を行った 10 試験すべてが同様に失敗していた。このことから、腫瘍ステージに基づく対象患者の選択には限界があることが示された。一方、癌患者の予後は腫瘍ステージのみならず、腫瘍浸潤リンパ球で示される腫瘍微小環境の免疫状態が関連していることが報告されている。癌治療ワクチンは腫瘍関連抗原に誘導または増幅される免疫反応を狙った治療法であり、特に細胞性免疫反応が腫瘍微小環境中の免疫状態に左右されることは作用機序からも示唆される。従って、癌治療ワクチンの臨床試験においては、腫瘍ステージに基づく患者選択のみでは十分ではなく、患者の免疫状態を踏まえて反応性の高い患者を選択する必要があると考ええる。

ただし、腫瘍浸潤リンパ球の中でも、Treg のようにメラノーマ、肝細胞癌⁵³⁾や腎細胞癌⁹¹⁾といった癌種では予後を悪化させる一方、頭頸部癌、乳癌^{49), 72)}や大腸癌といった癌種で逆の相関が報告されている場合もある。Treg の役割は複

雑であり、一般的な予後因子となり得るかはさらに検証する必要があることから、腫瘍浸潤リンパ球の種類や濃度を定義して予後因子とすることが提言されている⁹²⁾。

癌治療ワクチンの臨床試験においては、これらの腫瘍微小環境中の腫瘍浸潤リンパ球などのフェノタイプから免疫ステージを数値化し、対象患者の選択基準や層別解析のパラメーターとして活用していくべきである。例えば、Pagèsらは腫瘍中心部（Center of Tumor: CT）及び浸潤辺縁部（Invasive Margin: IM）のT細胞密度を用いて免疫ステージを可視化する取り組みを行っている⁹²⁾。実際に大腸癌ではCT及びIMでCD45RO⁺T細胞密度が高いと予後が良いことが示されており、こうした証明がなされたパラメーターは実用の可能性が期待される。

2) 免疫モニタリング

一般的な抗癌剤では、バイオマーカーの測定は血液サンプルまたは腫瘍検体が用いられる。しかしながら、生検はリスクが伴うことから侵襲性の低い血液サンプルが好まれる。癌治療ワクチンの臨床試験も同様に、免疫反応の測定は血液サンプルが主流となっており、TILやSKILといった組織検体はわずかであった。しかしながら、末梢血リンパ球は腫瘍微小環境を正確に表すものではないことから、免疫測定結果の評価に限界があることが示唆されている⁸⁷⁾。患者内の免疫抑制または免疫活性のバランスは癌治療ワクチンの効果に影響を与える。いくつかの臨床試験でSKILやTILが癌患者の予後因子であり、いくつかで治療との相関が証明されていることから、癌治療ワクチンの治療効果を予測する上でSKILやTILから推察される免疫状態の変化は無視できないと考える。

免疫モニタリングは、FDAのガイダンス Guidance for Industry: Clinical Considerations for Therapeutic Cancer Vaccinesによって、投与された抗原の免疫原性を証明するために、早期臨床試験における主要評価項目と考えられている¹⁾。さらに、免疫モニタリングは後期臨床試験における免疫反応と臨床効果との相関分析に有用とされている。

癌治療ワクチンの臨床試験において、腫瘍関連抗原に対する免疫原性を証明する方法として、血清中の抗原特異的抗体量を測定するELISAが広く定着していた。一方、本研究によって、細胞性免疫反応の測定法が統一されていない状況が明らかとなった。しかも、複数の免疫反応測定法を用いた相関分析では、免疫反応測定法によって相関分析の結果が整合しない事例が多く認められた。この原因としては、現在汎用されている細胞性免疫測定法が、細胞のサイトカイン放出能や増殖能など、様々な細胞機能を免疫反応とみなしているため、その測定結果の意味が測定法によって違いがあること、測定法によっては測定プ

ロセスが複雑になるほど測定者の技術によるばらつきが生じやすいことが考えられた。このことから、各測定法の特徴を踏まえ、再現性や信頼性のある細胞性免疫測定法を選択し、各測定法を技術的に統一する必要があることが示された。

3) 効果判定

一般に抗癌剤の腫瘍縮小効果の判定は WHO 基準または RECIST を活用して行われる。そして、癌治療ワクチンの臨床試験においても WHO 基準または RECIST が広く用いられている実態が明らかとなった。しかしながら、癌治療ワクチンは免疫反応を誘導させることから従来の抗癌剤よりも効果が遅れて発現するため、従来の効果判定基準に従うと、効果が発現する前に新病変が出現したり腫瘍径が見かけ上増大することによって、PD と判定される可能性がある。そして、従来の手法では PD と判定されると直ちに治療を中止する。そのため、癌治療ワクチンの効果発現の前に治療を中止することとなり、治療効果発現の機会を逸している場合があることが推察される。

これに対し、従来の基準の PD 判定によって治療が中断されることなく長期的な効果を評価するために、免疫療法のための治療判定基準として irRC が提唱されている。本研究によると、癌治療ワクチンの臨床試験に活用され始めたのは 2011 年からで、irRC の活用実績は数少ない。irRC は腫瘍増悪の定義を免疫療法のために改変したものであるが、こうした基準を事前に策定し、病態が一時的に進行しても治療を継続できるように対策を講じる必要がある。これらの概念はまだ定着するに至っていないが、今後はこうした免疫療法に特化した判定基準の検討を進めるべきである。

4) 免疫効果支持療法

一般にワクチンの投与の際、免疫反応を賦活化させるために、抗原にアジュバントを添加して用いられることがしばしばある。非特異的に能動免疫を増強するものであり、結核菌製剤である BCG や、担子菌製剤であるレンチナン、シゾフィランなどがある。癌治療においても免疫賦活剤として用いられる。癌治療ワクチンでは、Canvaxin[®]に BCG を併用した事例²⁰⁾²²⁾や、BEC2 に BCG を併用した事例^{22), 27), 40)}などがある。

シクロホスファミドなどの化学療法や放射線療法は免疫抑制作用があることが知られていると共に、Treg 細胞を枯渇化し、抗原特異的 T 細胞の増殖を促す

ことが報告されている⁶⁵⁾。

サイトカインもまた免疫調整に重要な役割を果たしており、中には非特異的に能動免疫を活性化させることから、癌治療に用いられる。例えば、T細胞から産生されることで知られる IL-2 は、抗腫瘍反応を引き起こすことが知られている⁶⁶⁾。癌治療ワクチンでは、腎細胞癌を対象とした Oncophage[®]の臨床試験で、単剤群と IL-2 併用群との比較が行われた。両群に著しい有効性は認められなかったものの、Oncophage[®]単剤で無効だった患者 2 例で IL-2 を併用すると病態が安定し、IL-2 の併用が Oncophage[®]の効果を高める可能性が示唆された⁶⁷⁾。このように、免疫賦活剤（アジュバント）やサイトカインは、癌治療ワクチンに併用される事例が少なくない。

Devaud らは、Vascular endothelial growth factor (VEGF：血管内皮増殖因子) や TGF- β が T 細胞の抗原認識を阻害することから、これらに対する阻害作用を有する薬剤と癌治療ワクチンの併用によって、治療の有効性が増すことを示している⁹³⁾。従って、sorafenib や sunitinib のような抗 VEGF 作用を有する薬剤を癌治療ワクチンと併用する際は、その影響を分析する必要がある。また、sunitinib は、腎細胞癌患者の血中 MDSC レベルを低下させたことから、sunitinib が MDSC を介する免疫抑制作用を抑制することによって、腫瘍免疫を調整していることが示唆されている⁹⁴⁾。

このように、一般に癌治療ワクチンの臨床試験の前治療として、免疫調整作用を有する治療が行われる可能性がある。実際に、BEC2 の事例^{22), 27), 40)}など、標準化学療法や放射線療法、または化学放射線療法を前治療として規定する臨床試験事例が複数認められた。こうした前治療による免疫抑制作用の調整は、癌治療ワクチンへどのように影響するか注意を払わなければならない一方、癌治療ワクチンの効果発現を支持する治療法としての可能性もある。

腫瘍に PD-L1 (programmed cell death – ligand 1) や PD-L2 などの免疫抑制分子 (免疫チェックポイント分子) が発現している場合、PD-1 が治療のターゲットとなる。また、CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4) も同様のターゲットとなる。これらの抗 CTLA-4 抗体、抗 PD-1 抗体、抗 PD-L1 抗体、抗 PD-L2 抗体は既に開発が進んでおり、抗 CTLA-4 抗体である ipilimumab は 2011 年 3 月に、抗 PD-1 抗体である pembrolizumab は 2014 年 9 月に FDA から承認を得ている。これらの免疫チェックポイント阻害剤は免疫抑制作用を抑制して免疫反応を増強させることから、癌治療ワクチンを支持する治療法としての可能性もあると期待される。例えば、ipilimumab と GVAX の併用療法を探索した膵管腺癌を対象とした Phase Ib では、ipilimumab 単独よりも、ipilimumab と GVAX の併用の方が生存期間が延長していた (3.6 カ月 vs. 5.7 カ月、HR: 0.51; P = 0.072)⁹⁵⁾。

免疫状態を正常に保つことは、腫瘍のコントロールに必須である⁹⁶⁾。従って、患者の免疫バランスを調整する治療を行うことで、癌治療ワクチンの効果を発現するための免疫基盤を得られる可能性がある。癌治療ワクチンの臨床試験において、こうした治療効果を支持する併用療法を検討する余地があると考ええる。

	従来の開発法	今後の考慮点
効果支持療法	<ul style="list-style-type: none"> 免疫賦活剤・サイトカイン・免疫抑制剤・放射線療法 	<ul style="list-style-type: none"> 免疫チェックポイント阻害剤
対象患者選択	<ul style="list-style-type: none"> 腫瘍ステージ（例：AJCC TNM分類） 	<ul style="list-style-type: none"> 腫瘍微小環境の免疫状態（例：免疫スコア）
免疫モニタリング	<ul style="list-style-type: none"> 血清抗原抗体反応 末梢血リンパ球機能分析 	<ul style="list-style-type: none"> 腫瘍微小環境の免疫状態 <ul style="list-style-type: none"> ✓ フェノタイプ分析 ✓ 浸潤レベル
効果判定	<ul style="list-style-type: none"> WHO基準 RECIST 	<ul style="list-style-type: none"> 免疫療法のための効果判定基準（例：irRC）

図 15. 癌治療ワクチン開発の評価法に対する改善策

つまり、癌治療ワクチン開発において現在主流となっている開発法と今後考慮すべき点は図 15 のようにまとめることができる。

本研究の調査結果と提言を FDA のガイダンス *Guidance for Industry: Clinical Considerations for Therapeutic Cancer Vaccines*（以下、FDA ガイダンス）と比較すると、表 19 の通りとなる。

対象患者については、FDA ガイダンスは腫瘍の進行度に着目した内容となっている。免疫システムについての記述も含まれるものの、“再燃または再発転移癌患者が複数の癌治療を受けていると考えられることから、免疫システムの反応が癌治療ワクチンに対して低下している可能性があることを考慮すべき”と、再燃または再発転移癌患者に対して注意を促しているにとどまっている。ただし、患者集団の多様性について慎重に検討することを推奨しており、本研究の第 2 章で Phase III 失敗事例を調査した結果導き出された結論と一致している。本研究ではさらに、第 3 章で腫瘍組織量及び免疫環境に対して患者集団の多様性が臨床試験結果に与える影響を調査し考察を行った。その結果、従来の腫瘍組織量を基準とした対象患者選択では十分とはいえず、免疫環境を数値化して対象患者を選択することが重要であると結論付けた。

免疫モニタリングについては、FDA ガイダンスは“少なくとも 2 種類の免疫学

的評価法を用いることを推奨し、評価法は再現性が確認され、標準化される必要がある”、と述べている。一方、本研究の第4章の結果、異なる2種類の免疫学的評価法を用いても、臨床アウトカムとの相関分析の結果が測定間で整合しない事例が8試験中5試験認められた。また、末梢血をサンプルとした免疫測定が、TILやSKILと比較して正確に効果を反映しないことを示唆する報告があるが、現実にはTILやSKILを測定した臨床試験はほとんどなかった（553試験中それぞれ17試験、2試験）。従って、本研究では、リンパ球のフェノタイプ分析・浸潤レベルの検討を提言した。FDAガイダンスが推奨している評価法の再現性や標準化については、特に細胞性免疫反応の測定法の標準化が必要であることが本研究のデータによって示された。

治療効果判定については、FDAガイダンスで癌治療ワクチン特有の反応として、十分な効果を発揮する前にPDとなる場合があることを明示している。このような状況に対応するため、病態が進行しても癌治療ワクチンを継続する場合の明確な基準をプロトコールに規定しておくことを推奨している。別グループによって免疫療法のための効果判定基準としてirRCが提唱されているが⁶⁹⁾、本研究の第4章で、irRCが癌治療ワクチンの臨床試験で活用された事例は553試験中7試験であり、定着しているとは言えない実態が明らかとなった。本研究では、癌治療ワクチンの臨床試験においてこうした免疫療法に適した効果判定基準を活用していくことを提言した。

免疫効果支持療法について、FDAガイダンスは、“免疫療法では抗原提示細胞活性の上昇、エフェクターT細胞の活性化、抑制性T細胞の除去など、複合的な免疫機構が効果的に働いている”という理解から、“他治療による細胞傷害や免疫調整の影響を開発計画全体にわたって考慮されるべき問題である”としている。実際に、本研究の第2章、第3章あるいは第5章の調査や考察の過程で、癌治療ワクチンの治療に、免疫賦活剤、サイトカイン、免疫抑制剤、放射線化学療法などの免疫調整に影響を与える治療が前治療あるいは併用で用いられる事例が多く認められた。FDAガイダンスの通り、開発計画の中でこれらの癌治療ワクチン治療への影響を考慮すべきと考える。予期せぬ影響をコントロールするための考慮のみでなく、癌治療ワクチンとの相乗効果を追及する可能性も考え得る。具体的には、免疫チェックポイント阻害剤など、新しい免疫治療法を癌治療ワクチンと組み合わせる可能性が今後の課題となろう。

表 19. FDA ガイダンスと本研究の調査及び提言の比較

項目	FDA ガイダンス ^{1), 7)}	本研究の調査	本研究の提言
対象患者	<ul style="list-style-type: none"> 有効性が認められるまでに一般的に 2-3 カ月要するため、それに見合う時間を確保可能な対象患者を選択すべき。 転移性癌患者と残存病変のないあるいは微小病変を有する癌患者、それぞれを選択する場合の長所と短所を吟味すべき。 早期臨床試験における患者集団の選択に関しては、患者集団内の多様性について慎重に検討すべき。 	<p>腫瘍組織量</p> <ul style="list-style-type: none"> 予後因子として広く知られている。 多くの臨床試験で腫瘍組織量による基準で患者選択を行っていたが、必ずしも試験は成功していなかった。 <p>免疫環境</p> <ul style="list-style-type: none"> 予後因子として多くの報告がある。 臨床試験で免疫環境による患者選択を行った事例はなかった。 	<p>癌治療ワクチンの臨床試験において、多様な患者集団を、</p> <ul style="list-style-type: none"> 腫瘍組織量 免疫環境 <p>の両方の観点から分類し、患者選択を行うべき。</p>
免疫モニタリング	<ul style="list-style-type: none"> 少なくとも 2 種類の免疫学的評価法を用いることを推奨する。 評価法は、再現性が確認され、標準化される必要がある。 	<ul style="list-style-type: none"> 異なる 2 種類の免疫学的評価法を用いた結果、臨床アウトカムとの相関分析結果が一致しない（相関有無）事例が多々あった。 免疫モニタリングは末梢血リンパ球の機能分析が主流であった。しかも、細胞性免疫反応測定法は統一されていなかった。 腫瘍微小環境に近い TIL や SKIL を活用したリンパ球のフェノタイプ分析や浸潤レベルを評価した事例は少なかった。 末梢血が TIL や SKIL と比べて正確に効果を反映しないことが示唆されていた。 	<p>癌治療ワクチンの臨床試験において、</p> <ul style="list-style-type: none"> 細胞性免疫反応測定法について信頼性や再現性などの特徴を踏まえて選択 細胞性免疫反応測定法の技術の標準化 リンパ球のフェノタイプ分析・浸潤レベルの検討 <p>を考慮すべき。</p>
効果判定	<p>癌治療ワクチンが免疫反応を誘導し十分な効果を発揮する前に PD となる場合がある。従って、SD はもちろん、PD は投与を中止する十分な理由とはいえない場合がある。</p>	<p>免疫療法の治療効果判定基準として irRC が提唱されているが、癌治療ワクチンの臨床試験にはまだ定着していなかった。</p>	<p>癌治療ワクチンの臨床試験において、免疫療法に適した効果判定基準を活用すべき。</p>
免疫効果支持療法	<p>腫瘍が破壊される際には複合的な免疫機構（抗原提示細胞活性の上昇、エフェクター T 細胞の活性化、抑制性 T 細胞の除去等）が効果的に働く。このような他治療は製品開発全体にわたって考慮されるべき。</p>	<p>1) 免疫賦活剤、2) サイトカイン、3) 免疫抑制剤、4) 放射線化学療法、5) 免疫チェックポイント阻害剤は、免疫を調整する。1) ~ 4) は癌治療ワクチンの前治療あるいは併用として汎用されていた。</p>	<p>癌治療ワクチン効果を支持する治療法を検討すべき。免疫チェックポイント阻害剤の活用も今後検討する余地がある。</p>

5.1.2. 癌治療ワクチン評価の開発フェーズに対する提言

癌治療ワクチンでは Phase I の忍容性、免疫原性に基づき用法用量の設定が行われる。Phase I の多くで末梢血の免疫反応から免疫原性が調査されている。ただし、本研究から示唆されたように、細胞性免疫反応を測定する場合、その特徴を考慮して免疫測定法の選択・標準化を図るべきである。

Phase II では治療法の探索が行われるが、多くで末梢血と共に腫瘍縮小効果やイベントまでの期間が評価されている。治療法の探索においては、対象患者の免疫環境の選択や、効果を支持する前治療や併用療法の検討が重要となる。免疫環境が予後に関連することから、癌治療ワクチンの臨床試験において、治療に適した免疫環境を探索することはその後の開発成否に関わる重要なポイントである。

また、腫瘍組織量は癌の予後因子として広く知られている上、癌治療ワクチンでは効果発現までに時間を要するため、しばしば効果発現までに腫瘍が増悪することが予想される。従って、外科的手術やその他の抗癌剤治療など、癌治療ワクチン治療前に腫瘍組織量を低減することも探索段階で検討すべき事項の一つである。また、腫瘍増悪を含む腫瘍縮小効果の判定では、免疫療法に適した効果判定基準を用いることを検討すべきである。

その一方で、患者内の免疫環境そのものが癌治療ワクチンによってもたらされる能動免疫反応を阻害している場合がある。この場合、免疫抑制分子として知られる免疫チェックポイント分子の発現状況によっては、免疫チェックポイント阻害剤など免疫反応抑制を阻害する治療と併用することが有効に働く可能性が推察される。こうした免疫反応の科学的根拠に基づいた併用療法も探索することが望ましいと考える。

Phase III 検証試験では主に生存期間などの臨床アウトカムが評価される。ただし、本研究の事例分析では、液性免疫反応の抗原抗体反応を基盤とした免疫原性と臨床アウトカムとの間に相関が示された事例が多数存在した一方、細胞性免疫反応と臨床アウトカムが証明された事例は数少なかった。その原因は、前述の免疫反応測定法の選択や標準化に関する課題、及び末梢血リンパ球の機能評価の限界にあることが示唆された。リンパ球のフェノタイプ分析も免疫測定の一つとして早期に検討すべきである。ただし、末梢血リンパ球は腫瘍浸潤リンパ球に比べて腫瘍微小環境を正しく反映しないという報告があることから、メラノーマなどの生検が可能な癌種では、末梢血リンパ球のみではなく腫瘍浸潤リンパ球の評価もまた、細胞性免疫反応測定の一つとして早期の段階から検討すべきと考える。早期段階からこれらを検討することによって、後期の開発失敗リスクを低減しうると考える。

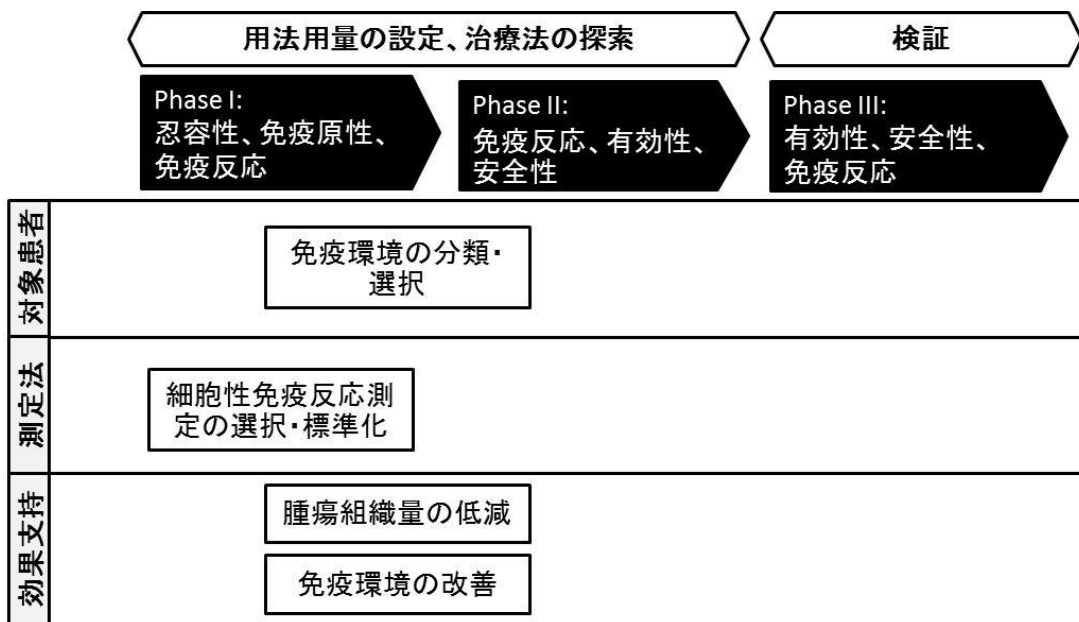


図 16. 癌治療ワクチン評価の開発フェーズに対する考慮点

5.1.3. 癌治療ワクチンの規制に対する提言

FDA は 2011 年 10 月に Guidance for Industry: Clinical Considerations for Therapeutic Cancer Vaccines を発行したが、その前に様々な議論を重ねている¹⁾。2007 年 2 月には FDA Center for Biologics Evaluation and Research (CBER : 生物製剤評価研究センター) と National Cancer Institute (NCI : アメリカ国立がん研究所) が共同でワークショップを開催し、癌治療ワクチンと免疫療法を開発から認可へ促すための議論を行っている。その後 American Society of Clinical Oncology (ASCO : 米国臨床腫瘍学会) での議論等を経て、2009 年 9 月にガイダンスの草案を提示し、12 月までコメントを収集していた。その間の 2009 年 10 月にも FDA CBER と NCI の共同ワークショップを開催していた。こうして研究者や企業との議論を経てガイダンスを提供している。

このように、癌治療ワクチンの開発を成功させ、新規治療の可能性を広げるためには、産官学の議論を充実させ、評価法に関して道筋を与える必要がある。同時に、国際的なコンセンサスを構築することができれば、国際開発が促進し、国際間の開発ギャップが低減することが期待される。そして、法的拘束力のないガイダンスはこうした議論の成果を総括するきっかけとなり、開発を効率的に推進するのに有用であると考ええる。

5.2. レギュラトリーサイエンスとしての本研究の意義

5.2.1. 開発法の構築に対する意義

医療レギュラトリーサイエンスは、新しい科学技術を医療に応用する際に、その成果を科学的根拠に基づいて評価、予測、意思決定を行う科学である。その結果、より優れた医療を人や社会にもたらすイノベーションを加速させることに資する。癌治療ワクチンは、特異的能動免疫を医療へ応用するイノベーションである。癌治療ワクチンの科学的証明は、原薬や製剤の安定性や品質などの CMC 試験、薬理作用や動物での毒性、薬物動態を証明する非臨床試験、ヒトでの有効性及び安全性を証明する臨床試験から成り立つ。特に、癌治療ワクチンは免疫系の細胞間相互作用を介するため、その証明方法に工夫を要する。中でも、生体内の免疫系を動物で証明することは限界があることから、特にヒトでの科学的証明に関心が集まっている。このことから、本研究では、臨床試験での科学的証明を中心とした癌治療ワクチンの開発法に対して提言を行った。

的確な法律やガイドラインの制定は医療レギュラトリーサイエンスの成果の一つといえる。ただし、これらには最も高いレベルの科学的手法が取り入れられなければならない。新しい科学技術のノウハウや、既存の手法に対する課題認識は、規制当局のみならずアカデミアや企業に存在することが多い。従って、法律やガイドラインの制定の前に、各所に存在する知識の集積やトレンドの洞察が必要となる。本研究は、癌治療ワクチン開発における企業の障壁及びアカデミアや企業によって蓄積された研究結果に基づきトレンドを分析し、現在の課題を明らかにした研究であり、癌治療ワクチンの評価法を最適化する必要性をデータから提起するものとして価値がある。

また、新しい科学技術のリスクベネフィットを予測し意思決定を行うためには、既存評価法の改善や新たな評価法の導入のための議論のプロセスが肝要である。本研究はこうした議論の糸口として、癌治療ワクチン開発の成功及び本分野の発展に寄与する。

5.2.2. 個別化医療の推進に対する意義

より安全で有効な製品を利用できるようにすることは、レギュラトリーサイエンスの果たす役割の一つである。治療の標的を絞り、個人レベルの治療効果を予測することによって、安全性や有効性が高められることから、遺伝子レベルで標的を設定した分子標的薬や抗体医薬の開発が活発に行われている。癌治療ワクチンは癌抗原を標的とした免疫反応を誘導または増幅する治療であり、1) 腫瘍細胞内のシグナル伝達系に起因する薬剤耐性を避けることができる、2) 特異性が高いため予期しない副作用を最低限に抑えることができる、3) 免疫が記憶されることで治療効果が継続する、などの恩恵が期待されている⁵⁾。

本研究によって、癌治療ワクチンの臨床試験では腫瘍組織量を中心に患者を選択することが多いことが明らかとなったが、一方で、複数の研究によって、免疫反応を阻害する特定の要因が治療効果を減弱させることが報告されている。従って、免疫状態を数値化して患者を選択できれば、免疫状態に基づいて治療効果を予測することが期待される。その結果、癌治療ワクチン治療に適した患者を事前に選択することができ、癌治療ワクチン治療の一層の個別化が進むと考えられる。そのためには、免疫状態の数値化を含め、免疫モニタリングの手法を改善し、免疫状態を適正に評価できるようにしなければならない。本研究は、これらの改善機会について提言するものであり、癌治療ワクチンを活用した個別化医療のさらなる進歩に貢献する。

5.3. 本研究の課題と今後の展望

本章では第 2 章から第 4 章までの研究成果を俯瞰し、癌治療ワクチンの開発を成功させるための改善策の総括、及びそれらの検討タイミングと本分野の規制に関する提言を行った。

本研究の結果、癌治療ワクチンの臨床試験において、以下の 4 点の検討が十分でない実態が明らかとなった。

- 1) 対象患者
- 2) 免疫モニタリング
- 3) 効果判定
- 4) 免疫効果支持療法

このことから、癌治療ワクチンの臨床試験では、以下の論点に取り組む余地があると考ええる。

- 1) 腫瘍組織量のみでなく、免疫ステージを活用し癌治療ワクチンに適した対象患者を選択して効果を評価すべきである
- 2) 各アッセイの信頼性や特徴を踏まえ細胞性免疫アッセイ法を選択、そして各アッセイ法を技術的に統一する必要がある
- 3) 免疫治療の効果判定においては免疫療法に適した効果判定基準を活用すべきである
- 4) その他、癌治療ワクチンの効果を支持する治療法を検討すべきである

2) については、リンパ球のフェノタイプ分析も考慮点の一つである。癌治療ワクチン開発では、開発早期の段階からこれらを探索することが重要である。

ただし、これらの提言がさらに広く受け入れられるためには、今後癌治療ワクチンの臨床試験で実際に検証する必要がある。法的強制力のないガイダンスは、こうした新たな取り組みを促す際に有用であると展望する。

癌治療ワクチンの歴史は古いものの、規制当局の承認実績としては新しい医療分野であり、評価法が統一されていない。本研究は、癌治療ワクチン開発の現状を分析し、規制当局の動向や科学的な研究報告に基づく知見を踏まえた上で、既存評価法に対して改善策を提言するものである。免疫療法に特有の科学的根拠に基づく開発方法論が求められている癌治療ワクチンの領域において、臨床試験における障壁を明らかにし、評価法を基軸とした開発方法論の確立に有用な見解を与えたことから、医薬品開発の成功と、ひいては本分野の発展に寄与するものと考ええる。

参考文献

- 1) Guidance for Industry: Clinical Considerations for Therapeutic Cancer Vaccines (October 2011) accessible at:
<http://www.fda.gov/downloads/biologicsbloodvaccines/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/vaccines/ucm278673.pdf>
- 2) FDA's homepage Vaccines, Blood & Biologics, Cellular & Gene Therapy Products, Approved Products. Available from
<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/ucm210012.htm>
- 3) WHO's homepage. Available from
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>
- 4) National Cancer Institute SEER Stat Fact Sheets: All Cancer Sites. Available from
<http://seer.cancer.gov/statfacts/html/all.html>
- 5) Emens LA. Cancer vaccines: on the threshold of success. *Expert Opin.* 2008; 13(2):295-308
- 6) 日本バイオセラピー学会 がん治療用ペプチドワクチンガイダンス (2012年 11 月改訂) :
<http://jsbt.org/misc/2012%E3%82%AC%E3%82%A4%E3%83%80%E3%83%B3%E3%82%B9%E6%9C%80%E7%B5%82%E7%89%88.pdf>
- 7) 下平滋隆 がんの免疫細胞療法 of 進歩 信州医学雑誌 2007; 55(3):113-120
- 8) Vergari M, Intrivici C, Huen NY, Schlom J and Tsang KY. Strategies for Cancer Vaccine Development. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2010, Article ID 596432
- 9) World's First Therapeutic Vaccine for Brain Cancer Commercially Available to Patients in Switzerland. NorthwestBiotherapeutics, Inc. press release dated 9 July 2007
- 10) Brazilian Scientist creates one of the first commercially available vaccine against cancer in the world. Genoa Biotechnologia S.A. News retrieved 25 October 2012
- 11) Melanoma Vaccine – AVAX Technologies. Adis International Ltd. *Biodrugs* 2003;17(1):69-72
- 12) Berd D, Sato T, Maguire HC Jr., Kairys J, and Mastrangelo MJ. Immunopharmacologic analysis of an autologous, hapten-modified human melanoma vaccine. *J Clin Oncol* 2004; 22:403-415
- 13) Randazzo M, Terness P, Opelz G and Kleist C. Active-specific immunotherapy of human cancers with the heat shock protein Gp96-Revisited. *Int. J. Cancer* 2012;

130:2219-2231

- 14) Wood C, Srivastava P, Bukowski R, Lacombe L, Gorelov AI, Gorelov S, et al. An adjuvant autologous therapeutic vaccine (HSPPC-96; vitespen) versus observation alone for patients at high risk of recurrence after nephrectomy for renal cell carcinoma: a multicenter, open-label, randomized phase III trial. *Lancet* 2008; 372:145-54
- 15) González G, Lage A, Grombel T, Rodriguez G, Garcia B, Cuevas A et al. CIMAvax-EGF: A novel therapeutic vaccine for advanced lung cancer. *Biotechnologia Aplicada* 2009; 26(4):345-348
- 16) Small EJ, Schellhammer PF, Higano CS, Redfern CH, Nemunaitis JJ, Valone FH, et al. Placebo-Controlled Phase III Trial of Immunologic Therapy with Sipuleucel-T (APC8015) in Patients with Metastatic, Asymptomatic Hormone Refractory Prostate Cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24:3089-3094
- 17) Higano CS, Schellhammer PF, Small EJ, Burch PA, Nemunaitis J, Yuh L, Provost N, et al. Integrated Data From 2 Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase 3 Trials of Active Cellular Immunotherapy With Sipuleucel-T in Advanced Prostate Cancer. *Cancer* 2009; 115:3670-3679
- 18) Kantoff PW, Higano CS, Shore ND, Roy Berger E, Small EJ, Penson DF, et al. Sipuleucel-T Immunotherapy for Castration-Resistant Prostate Cancer. *N Engl J Med* 2010; 363(5):411-422
- 19) European Medicines Agency. Withdrawal assessment report for Oncophage dated 19 November 2009. Doc.Ref: EMA/CHMP/775076/2009
- 20) Sondak VK, Sabel MS and Mulé JJ. Allogeneic and Autologous Melanoma Vaccines: Where Have We Been and Where Are We Going? *Clin Cancer Res* 2006; 12:2337s-2341s
- 21) Therion Reports Results of Phase 3 PANVAC-VF Trial and Announces Plans for Company Sale. PR Newswire 28 June available from <http://www.prnewswire.com/news-releases/therion-reports-results-of-phase-3-panvac-vf-trial-and-announces-plans-for-company-sale-56997582.html>
- 22) Finke LH, Wentworth K, Blumenstein B, Rudolph NS, Levitsky H and Hoos A. Lessons from randomized phase III studies with active cancer immunotherapies – Outcomes from the 2006 Meeting of the Cancer Vaccine Consortium (CVC). *Vaccine* 2007; 25S:B97-B109
- 23) Oncothyreon Inc. Oncothyreon announces temporary suspension of Stimuvax clinical trials by Merck Serono. Press release; Mar 23, 2010.
- 24) Freedman A, Neelapu SS, Nichols C, Robertson MJ, Djulbegovic B, Winter JN, et

- al. Placebo-Controlled Phase III Trial of Patient-Specific Immunotherapy With Mitumprotimut-T and Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor After Retuximab in Patients With Follicular Lymphoma. *J Clin Oncol* 2009; 27:3036-3043
- 25) Schuster SJ, Neelapu SS, Gause BL, Janik JE, Muggia FM, Gockerman JP, et al. Vaccination with patient-specific tumor-derived antigen in first remission improves disease-free survival in follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2011; 29:2787-2794
 - 26) Fernandes LE, Gabri MR, Guthmann MD, Gomez RE, Gold S, Fainboim L, et al. NGcGM3 Ganglioside: a privileged target for cancer vaccines. *Clinical and Development Immunology* 2010, Article ID814397, 8 pages doi:10.1155/2010/814397
 - 27) Giaccone G, Debruyne C, Felip E, Chapman PB, Gant SC, Millward M, et al. Phase III Study of Adjuvant Vaccination With Bec2/Bacille Calmette-Guerin in Responding Patients With Limited-Disease Small-Cell Lung Cancer (European Organization for Research and Treatment of Cancer 08971-08971B; Silva Study). *J Clin Oncol* 2005; 23:6854-6864
 - 28) Gilliam AD and Watson SA. G17DT: an antigastrin immunogen for the treatment of gastrointestinal malignancy. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2007; 7(3):397-404
 - 29) OncoTherapy Science, Inc. Press release dated Feb. 29, 2012
 - 30) Testori A, Richards J, Whitman E, Mann GB, Lutzky J, Camacho L, et al. Phase III comparison of vitespen, an autologous tumor-derived heat shock protein gp96 peptide complex vaccine, with physician's choice of treatment for stage IV melanoma: The C-100-21 study group. *J Clin Oncol* 2008; 26:955-962
 - 31) Uyl-de Groot CA, Vermorken JB, Hanna Jr. MG, Verboom P, Groot MT, Bonsel GJ et al. Immunotherapy with autologous tumor cell-BCG vaccine in patients with colon cancer: a prospective study of medical and economic benefits. *Vaccine* 2005; 23:2379-2387
 - 32) Bedikian AY and Del Vecchio M. Allovectin-7 therapy in metastatic melanoma. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2008; 8(6):839-844
 - 33) Pharmexa stops one of two Phase III trials. *Drugs.com* May 13, 2008 available from <http://www.drugs.com/news/pharmexa-stops-one-two-phase-iii-trials-8180.html>
 - 34) Butts CA, Socinski MA, Mitchell P, Thatcher N, Harvel L, Krzakowski J, et al. START: A phase III study of L-BLP25 cancer immunotherapy for unresectable stage III non-small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2013; 31 (suppl; abstr7500)
 - 35) Schuster SJ, Neelapu SS, Gause BL, Muggia FM, Gockerman JP, Sotomayor EM,

- et al. Idiotypic vaccine therapy (BioVaxID) in follicular lymphoma in first complete remission: Phase III clinical trial results. *J Clin Oncol* 2009; 27:18s (suppl; abstr2)
- 36) Lee ST, Jiang YF, Park KU, Woo AF and Neelapu SS. BioVaxID™: a personalized therapeutic cancer vaccine for non-Hodgkin's lymphoma. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2007; 7(1):113-122
 - 37) Shuster SJ, Neelapu SS, Gause BL, Muggia FM, Gockerman JP, Sotomayor EM, et al. Idiotypic vaccine therapy (BioVaxID) in follicular lymphoma in first complete remission. ASCO2009 Annual Meeting.
 - 38) Dalgleish AG. Therapeutic cancer vaccines: Why so few randomized phase III studies reflect the initial optimism of phase II studies. *Vaccine* 2011; 29:8501-8505
 - 39) Mayordomo J, Tres A, Miles D, Finke L and Jenkins H. Long-term follow-up of patients concomitantly treated with hormone therapy in a prospective controlled randomized multicenter clinical study comparing STn-KLH vaccine with KLH control in stage IV breast cancer following first line chemotherapy. *J Clin Oncol* (ASCO Meeting Abstracts) July 2004; 22(14) suppl 2603
 - 40) Chapman PB, Williams L, Salibi N, Hwu W, Krown SE and Livingston PO. A phase II trial comparing five dose levels of BEC2 anti-idiotypic monoclonal antibody vaccine that mimics GD3 ganglioside. *Vaccine* 2004; 22:2904-2909
 - 41) Redfern CH, Guthrie TH, Bessudo A, Densmore JJ, Holman PR, Janakiraman N, et al. Phase II Trial of Idiotypic Vaccination in Previously Treated Patients With Indolent Non-Hodgkin's Lymphoma Resulting in Durable Clinical Responses. *J Clin Oncol* 2006; 24:3107-3112
 - 42) Koç ON, Redfern C, Wiernik PH, Rosenfelt F, Winter JN, Carter WD, et al. A Phase 2 Trial of Immunotherapy With Mitumprotimut-T (Id-KLH) and GM-CSF Following Rituximab in Follicular B-cell Lymphoma. *J Immunother* 2010; 33:178-184
 - 43) Timmerman JM, Vose JM, Czerwinski DK, Weng WK, Ingolia D, Mayo M, et al. Tumor-specific recombinant idiotype immunization after chemotherapy as initial treatment for follicular non-Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2009; 50:37-46
 - 44) Genitope Corporation. "Genitope Corporation To Suspend Development Of MyVax(R) Personalized Immunotherapy." Medical News Today. MediLexicon, Intl., 12 Mar. 2008. Web.
10 Jan. 2013. <<http://www.medicalnewstoday.com/releases/100258.php>>
 - 45) Madan RA, Bilusic M, Heery C, Schlom J and Gulley JL. Clinical Evaluation of TRICOM Vector Therapeutic Cancer Vaccines. *Seminars in Oncology* 2012;

38:296-304

- 46) Weng WK, Czerwinski D, Timmerman J, Hsu FJ, Levy R. Clinical outcome of lymphoma patients after idiotype vaccination is correlated with humoral immune response and immunoglobulin G Fc receptor genotype. *J Clin Oncol* 2004; 22:4717-24
- 47) Kola L and Landis J. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? *Nature Reviews Drug Oncology* 2004; 3(8):711-715
- 48) Gooden MJM, de Bock GH, Leffers N, Daemen T, Nijman HW. The prognostic influence of tumour-infiltrating lymphocytes in cancer: a systematic review with meta-analysis. *Br J Cancer* 2011; 105:93-103
- 49) Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nat Rev Cancer* 2012; 12:298-306
- 50) Galon J, Pagès F, Marincola FM, Thurin M, Trinchieri G, Fox BA, et al. The Immune score as a new possible approach for the classification of cancer. *J Transl Med* 2012; 10:1
- 51) Reynolds SR, Zeleniuch-Jacquotte A, Shapiro RL, Roses DF, Harris MN, Johnston D, Bystryń JC. Vaccine-induced CD8+ T-cell responses to MAGE-3 correlate with clinical outcome in patients with melanoma. *Clin Cancer Res* 2003; 9:657-62
- 52) Speiser DE, Rimoldi D, Batard P, Liénard D, Lejeune F, Cerottini JC, Romero P. Disease-driven T cell activation predicts immune responses to vaccination against melanoma. *Cancer Immun* 2003; 3:12
- 53) Kobayashi N, Hiraoka N, Yamaguchi W, Ojima H, Kana Y, Kosuge T, et al. FOXP3+ regulatory T cells affect the development and progression of hepatocarcinogenesis. *Clin Cancer Res* 2007;13:902-911
- 54) Diaz-Montero CM, Salem ML, Nishimura MI, Garrett-Mayer RE, Cole DJ, Montero AJ. Increased circulating myeloid-derived suppressor cells correlate with clinical cancer stage, metastatic tumor burden, and doxorubicin-cyclophosphamide chemotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 2009; 58:49-59
- 55) Bilusic M and Gulley JL. Endpoints, patient selection, and biomarkers in the design of clinical trials for cancer vaccines. *Cancer Immunol Immunother* 2012; 61(1):109-117
- 56) Gajewski TF, Woo SR, Zha Y, Spaapen R, Zheng Y, Corrales L, et al. Cancer immunotherapy strategies based on overcoming barriers within the tumor microenvironment. *Curr Opin Immunol* 2013; 25:268-276
- 57) Small EJ, Fratesi P, Reese DM, Strang G, Laus R, Peshwa MV, et al. Immunotherapy of Hormone-Refractory Prostate Cancer With Antigen-Loaded Dendritic Cells. *J Clin Oncol* 2000; 18:3894-3903

- 58) Hsueh EC and Morton DL. Antigen-based immunotherapy of melanoma: Canvaxin therapeutic polyvalent cancer vaccine. *Seminars in Cancer Biology* 2003; 13:401-407
- 59) Morton DL, Foshag LJ, Hoon DSB, Nizze JA, Famatiga E, Wanek LA, Chang C, Davtyan DG, Gupta RK, Elashoff R, et al. Prolongation of survival in metastatic melanoma after active specific immunotherapy with a new polyvalent melanoma vaccine. *Ann Surg* 1992; 216:463-82
- 60) Brett BT, Smith SC, Bouvier CV, Michaeli D, Hochhauser D, Davidson BR, et al. Phase II Study of Anti-Gastrin-17 Antibodies, Raised to G17DT, in Advanced Pancreatic Cancer. *J Clin Oncol* 2002; 20:4225-4231
- 61) Gilliam AD, Broome P, Topuzov EG, Garin AM, Pulay I, Humphreys J, Whitehead A, Takhar A, Rowlands BJ, Beckingham IJ. An international multicenter randomized controlled trial of G17DT in patients with pancreatic cancer. *Pancreas* 2012; 41:374-9
- 62) Berd D, Maguire HC Jr., Schuchter LM, Hamilton R, Hauck WW, Sato T, Mastrangelo MJ. Autologous hapten-modified melanoma vaccine as postsurgical adjuvant treatment after resection of nodal metastases. *J Clin Oncol* 1997; 15:2359-70
- 63) Reddish MA, MacLean GD, Poppema S, Berg A, Longenecker BM. Pre-immunotherapy serum CA27.29 (MUC-1) mucin level and CD69+ lymphocytes correlate with effects of Theratope sialyl-Tn-KLH cancer vaccine in active specific immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 1996; 42:303-9
- 64) Miles D, Roché H, Martin M, Perren TJ, Cameron DA, Glaspy J, Dodwell D, Parker J, Mayordomo J, Tres A, et al.; Theratope® Study Group. Phase III multicenter clinical trial of the sialyl-TN (STn)-keyhole limpet hemocyanin (KLH) vaccine for metastatic breast cancer. *Oncologist* 2011; 16:1092-100
- 65) Terando AM, Faries MB and Morton DL. Vaccine therapy for melanoma: Current status and future directions. *Vaccine* 2007; 25S:B4-B16
- 66) McDermott DF, Regan MM, Clark JI, Flaherty LE, Weiss GR, Logan TF, et al. Randomized Phase III Trial of High-Dose Interleukin-2 Versus Subcutaneous Interleukin-2 and Interferon in Patients With Metastatic Renal Cell Carcinoma. *J Clin Oncol* 2005; 23:133-141
- 67) Jonasch E, Wood C, Tamboli P, Pagliaro LC, Tu SM, Kim J, et al. Vaccination of metastatic renal cell carcinoma patients with autologous tumor-derived vitespen vaccine: clinical findings. *Br J Cancer* 2008; 98:1336-1341
- 68) Mlecnik B, Tosolini M, Kirilovsky A, Berger A, Bindea G, Meatchi T, Bruneval P,

- Trajanoski Z, Fridman WH, Pagès F, et al. Histopathologic-based prognostic factors of colorectal cancers are associated with the state of the local immune reaction. *J Clin Oncol* 2011; 29:610-8
- 69) Wolchok JD, Hoos A, O'Day S, Weber JS, Hamid O, Lebbé C, et al. Guidance for the evaluation of immune therapy activity in solid tumours: Immune-related response criteria. *Clin Cancer Res* 2009; 15(23):7412-7420
- 70) Mahmoud SMA, Paish EC, Powe DG, Macmillan RD, Grainge MJ, Lee AH et al. Tumor-infiltrating CD8+ lymphocytes predict clinical outcome in breast cancer. *J Clin Oncol* 2011; 29:1949-1955
- 71) Balermipas P, Michel Y, Wangenblast J, Seitz O, Weiss C, Rödel C et al. Tumour-infiltrating lymphocytes predict response to definitive chemoradiotherapy in head and neck cancer. *Br J Cancer* 2014; 110(2):501-509
- 72) West NR, Kost SE, Martin SD, Milne K, deLeeuw RJ, Nelson BH et al. Tumour-infiltrating FOXP3+ lymphocytes are associated with cytotoxic immune responses and good clinical outcome in oestrogen receptor-negative breast cancer. *Br J Cancer* 2013; 108:155-162
- 73) Aarntzen EH, Bol K, Schreibelt G, Jacobs JF, Lesterhuis WJ, van Rossum MM et al. Skin-test infiltrating lymphocytes early predict clinical outcome of dendritic cell-based vaccination in metastatic melanoma. *Cancer Res* 2012; 72(23): 6102-6110
- 74) 固形がんの治療効果判定のための新ガイドライン（RECIST ガイドライン）日本語訳 JCOG 版（2001 年 10 月）
http://www.jcog.jp/doctor/tool/C_150_0010.pdf
- 75) 「抗悪性腫瘍薬の臨床評価方法に関するガイドライン」の改訂について 厚生労働省医薬品食品局審査管理課長通知（薬食審査発第 1101001 号）（平成 17 年 11 月 1 日）
- 76) 皮膚悪性腫瘍ガイドライン 公益社団法人日本皮膚科学会（2006 年 12 月）
<https://www.dermatol.or.jp/medical/guideline/skincancer/about.html>
- 77) Sheikh NA, Petrylak D, Kantoff PW, dela Rosa C, Stewart FP, Kuan LY, et al. Sipuleucel-T immune parameters correlate with survival: an analysis of the randomized phase 3 clinical trials in men with castration-resistant prostate cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2013; 62:137-147
- 78) Lutz E, Yeo CJ, Lillemoe KD, Biedrzycki B, Kobrin B, Herman J et al. A lethally irradiated allogeneic granulocyte-macrophage colony stimulating factor-secreting tumor vaccine for pancreatic adenocarcinoma: A phase II trial of safety, efficacy, and immune activation. *Ann Surg* 2011; 253(2):328-335
- 79) Walter S, Weinschenk T, Stenzl A, Zdrojowy R, Pluzanska A, Szczylik C, et al.

- Multi-peptide immune response to cancer vaccine IMA901 after single-dose cyclophosphamide associates with longer patient survival. *Nat. Med.* 2012; 18(8):1254-1261
- 80) Gulley JL, Arlen PM, Madan RA, Tsang KY, Pazdur MP, Skarupa L, et al. Immunologic and prognostic factors associated with overall survival employing a poxviral-based PSA vaccine in metastatic castrate-resistant prostate cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2010; 59(5):663-674
 - 81) Vergati M, Cereda V, Gulley JL, Huen NY, Rogers CJ, Hance KW, et al. Analysis of circulating regulatory T cells in patients with metastatic prostate cancer pre- versus post- vaccination. *Cancer Immunol Immunother* 2011; 60(2):197-206
 - 82) Disis ML, Wallace DR, Gooley TA, Dang Y, Slota M, Lu H, et al. Concurrent trastuzumab and HER2/neu-specific vaccination in patients with metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27:4685-4692
 - 83) Amin A, Benavides LC, Holmes JP, Gates JD, Carmichael MG, Hueman MT, et al. Assessment of immunologic response and recurrence patterns among patients with clinical recurrence after vaccination with a preventive HER2/neu peptide vaccine: from US military cancer institute clinical trials group study I-01 and I-02. *Cancer Immunol Immunother* 2008; 57:1817-1825
 - 84) Keilholz U, Weber J, Finke JH, Gabrilovich DI, Kast WM and Disis ML et al. Immunologic monitoring of cancer vaccine therapy: Results of a workshop sponsored by the Society for Biological Therapy. *J Immunol* 2002; 25(2):97-138
 - 85) Streitz M, Miloud T, Kapinsky M, Reed MR, Magari R, Geissler EK, et al. Standardization of whole blood immune phenotype monitoring for clinical trials: panels and methods from the ONE study. *Trans Res* 2013; 2(1):17
 - 86) Han Y, Guo Q, Zhang M, Chen Z and Cao X. CD69+CD4+CD25- T cells, a new subset of regulatory T cells, suppress T cell proliferation through membrane-bound TGF-beta1. *J Immunol* 2009; 182(1):111-120
 - 87) Tjin EP, Konijnenberg D, Krebbers G, Mallo H, Drijfhout JW, Franken KL, et al. T-cell immune function in tumor, skin, and peripheral blood of advanced stage melanoma patients: implications for immunotherapy. *Clin Cancer Res* 2011; 17(17):5736-5747
 - 88) Donskov F, Bønnedsgaard KM, Masse H, Marcussen N, Fisker R, Jenssen JJ, et al. Intratumoural and peripheral blood lymphocyte subsets in patients with metastatic renal cell carcinoma undergoing interleukin-2 based immunotherapy: association to objective response and survival. *Br J Cancer* 2002; 87:194-201
 - 89) Hoos A, Britten CM, Huber C and O'Donnell-Tormey J. A methodological

- framework to enhance the clinical success of cancer immunotherapy. *Nat. Biotechnol.* 2011; 29(10):867-870
- 90) Hoos A, Eggermont AMM, Janetzki S, Hodi FS, Ibrahim R, Anderson A, et al. Improved endpoints for cancer immunotherapy trials. *J Natl Cancer Inst* 2010; 102:1388-1397
 - 91) Pohla H, Buchner A, Stadlbauer B, Frankenberger B, Stevanovi S, Walter S, et al. High immune response rates and decreased frequencies of regulatory T cells in metastatic renal cell carcinoma patients after tumor cell vaccination. *Mol Med* 2012; 18:1499-1508
 - 92) Pagès F, Galon J, Dieu-Nosjean MC, Tartour E, Sautès-Fridman C and Fridman WH. Immune infiltration in human tumors: a prognostic factor that should not be ignored. *Oncogene* 2010; 29:1093-1102
 - 93) Devaud C, John LB, Westwood JA, Darcy PK and Kershaw MH. Immune modulation of the tumor microenvironment for enhancing cancer immunotherapy. *Oncoimmunology* 2013; 2(8):e25961
 - 94) Ko JS, Zea AH, Rini BI, Ireland JL, Elson P, Cohen P, et al. Sunitinib mediates reversal of myeloid-derived suppressor cell accumulation in renal cell carcinoma patients. *Clin Cancer Res* 2009; 15(6):2148-2157
 - 95) Le DT, Lutz E, Uram JN, Sugar EA, Onners B, Solt S, et al. Evaluation of Ipilimumab in combination with allogeneic pancreatic tumor cells transfected with a GM-CSF gene in previously treated pancreatic cancer. *J Immunother* 2013; 36(7):382-389
 - 96) Whiteside TL. Immune suppression in cancer: Effects on immune cells, mechanisms and future therapeutic intervention. *Semin Cancer Biol* 2006; 16:3-15
 - 97) 日本バイセラピー学会企業向けガイダンスがん治療用ワクチンのための臨床学的考察（2011年10月FDA発出Guidance for Industry: Clinical Considerations for Therapeutic Cancer Vaccines の翻訳版）
<http://jsbt.org/misc/%E4%BC%81%E6%A5%AD%E5%90%91%E3%81%91%E3%82%AC%E3%82%A4%E3%83%80%E3%83%B3%E3%82%B9%E5%8D%B0%E5%88%B7%E7%94%A8.pdf>
 - 98) Chen TT. Statistical issues and challenges in immune-oncology. *J Immunother Cancer* 2013; 1:18

謝辞

本研究を進めるにあたり終始親切なご指導とあたたかいご鞭撻を賜りました、東京女子医科大学・早稲田大学共同大学院共同先端生命医科学専攻 有賀 淳教授に心から感謝の意を表します。最初の小さな成果に満足することなく、研究内容を発展させながら 3 年間継続して課題を追求することができたのは、有賀教授のご助言と励ましのお陰です。深く御礼申し上げます。

本論文をまとめるにあたり数多くのご助言とご指導を賜りました、東京女子医科大学・早稲田大学共同先端生命医科学専攻 武岡 真司教授および飯室 聡准教授に厚く御礼申し上げます。

本研究につきまして貴重なご助言とご指導を賜りました、東京女子医科大学・早稲田大学共同大学院共同先端生命医科学専攻 梅津 光生教授、大和 雅之教授、伊関 洋教授、岩崎 清隆教授、正宗 賢教授、早稲田大学 笠貫 宏特命教授、池田 康夫特命教授をはじめ、指導教官の皆様にご心より感謝申し上げます。数多くのご助言とあたたかい激励は、研究を進める上での糧となりました。早稲田大学 軽部 裕代助教、東京女子医科大学 渡辺 夏巳非常勤講師には、学生生活を親身にご支援頂きました。誠にありがとうございました。

博士課程在学中にお世話になりました、第 1 期生、第 2 期生の諸先輩方、第 3 期生の同期の皆様、後輩の皆様には、研究の枠にとらわれない議論や情報交換を通して、様々な気づきを与えて頂きました。深く感謝致します。特に同期の皆様の存在は大変励みとなりました。同じ社会人学生として苦楽を共にした仲間は何ものにも代え難く、貴重な同志を得られたことに感謝致します。

最後に、働きながら博士号取得を目指す私の意思を尊重し、陰ながら応援してくれた家族に感謝の意を表します。

2015 年 2 月 大城千鶴

研究業績

種類別	題名、 発表・発行掲載誌名、 発表・発行年月、 連名者
1. 論文	1) ○ <u>C. Ogi</u> and A. Aruga. New concepts of biomarkers and clinical outcomes for therapeutic cancer vaccines in clinical trials. <i>Immunotherapy</i> 2014; 6(10):1025-1036 2) <u>C. Ogi</u> and A. Aruga. Clinical evaluation of therapeutic cancer vaccines. <i>Human Vaccines & Immunotherapeutics</i> 2013; 9(5):1049-57
2. 総説	1) <u>C. Ogi</u> and A. Aruga. Immunological monitoring of anticancer vaccines in clinical trials. <i>Oncoimmunology</i> 2013; 2(8):e26012
3. 講演	1) <u>大城千鶴</u> 、有賀淳「癌治療ワクチンの臨床試験における有効性評価項目に関する新規概念の調査と考察」 日本生体医工学会 専門研究会 第7回医療機器に関するレギュラトリーサイエンス研究会(東京、2014年3月8日) 2) <u>大城千鶴</u> 、有賀淳「癌治療ワクチンの開発における免疫評価に対する考察」 日本生体医工学会 専門研究会 第6回医療機器に関するレギュラトリーサイエンス研究会(東京、2013年10月12日) 3) <u>大城千鶴</u> 、有賀淳「癌治療ワクチンの Phase III 試験の臨床評価に対する事後的考察」 日本生体医工学会 専門研究会 第5回医療機器に関するレギュラトリーサイエンス研究会(東京、2013年3月2日) 4) <u>大城千鶴</u> 、有賀淳「承認事例に基づく癌治療ワクチンの規制に対する考察」 日本生体医工学会 専門研究会 第4回医療機器に関するレギュラトリーサイエンス研究会(東京、2012年9月29日)
4. その他 (論文)	1) F. Fukai, S. Hasebe, M. Ueki, M. Mutoh, <u>C. Ohgi</u> , H. Takahashi, K. Takeda and T. Katayama. Identification of the anti-adhesive site buried within the heparin-binding domain of fibronectin. <i>The Journal of Biochemistry</i> 1997; 121(2): 189-92
5. その他 (講演)	1) <u>大城千鶴</u> 、深井文雄、片山敬、藤田奈穂、秋山勝彦、後藤武「フィブロネクチン由来反接着性ペプチドの癌転移抑制への応用の基礎的検討」 第71回日本生化学学会大会(名古屋、1998年10月15日) 2) <u>C. Ohgi</u> , F. Fukai, T. Katayama, et al. "A Fibronectin-derived Peptide (Termed III14-2) Containing YTIYVIAL Inhibits Adhesion, Migration, Growth and MMP Production of Metastatic Cell Types" Third Congress of the Asian-Pacific Organization for Cell Biology (大阪、1998年8月26日) 3) <u>大城千鶴</u> 、深井文雄、片山敬、藤田奈穂、下仲基之「フィブロネクチン由来反接着性ペプチドの増殖抑制作用」 第30回日本結合組織学会学術大会(和歌山、1998年6月12日) 4) <u>大城千鶴</u> 、深井文雄、藤田奈穂、片山敬、秋山勝彦「フィブロネクチン由来反接着性ペプチドの癌転移抑制作用」 日本薬学会第118年回(京都、1998年4月1日) 5) <u>大城千鶴</u> 、深井文雄、藤田奈穂、片山敬、秋山勝彦「フィブロネクチン由来反接着性ペプチドの癌転移抑制への応用の基礎的検討」 第50回日本細胞生物学会大会(横浜、1997年10月1日)